

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN BROMELIAS EPÍFITAS DEL GÉNERO *WERAUHIA* J.R.  
GRANT (BROMELIACEAE: TILLANDSIOIDEAE): ASEGURAMIENTO REPRODUCTIVO Y  
MECANISMOS DE COEXISTENCIA REPRODUCTIVA

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en  
Biología para optar al grado y título de Maestría Académica en Biología

STEPHANIE MARÍA NÚÑEZ HIDALGO

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

## **Dedicatoria**

A mi madre Mayra Hidalgo por su apoyo incondicional en todos mis años de estudio.

## Agradecimientos

Quiero agradecer al personal del Campo Escuela Nacional Iztarú de los Guías y Scouts de Costa Rica y a las administraciones de la señora Yolanda Valverde y el señor Marlon Fallas por toda la ayuda brindada durante la realización del trabajo de campo en las instalaciones.

A mis amigos Christian Trejos, José Murillo, Marco Cedeño y Karen Gil por sus palabras de apoyo o porque en alguna ocasión nos acompañaron en alguna tarde fría en La Carpintera. Agradezco a mis amigos el Ing. Juan Pablo Villegas y el profesor Gustavo Vargas de la Universidad Nacional, por la motivación y apoyo constante durante todos estos años.

A mi amigo Jorge Gonzáles por su invaluable ayuda con la captura e identificación de murciélagos. Al profesor Paul Hanson e Isidro Chacón por ayudarme con la identificación de insectos y a Francisco Durán del Museo Nacional por su ayuda con la identificación de roedores.

Agradezco a los profesores Eduardo Chacón y Eric Fuchs por sus recomendaciones y su disposición de ayudarme siempre que lo necesite. A todos los profesores de la Escuela de Biología de los que recibí clases, especialmente a Mario Blanco y Adam Karremans por sus enseñanzas y su valiosa contribución en mi formación como botánica en mi paso por el programa.

En especial quiero agradecer a mi tutor el Dr. Alfredo Cascante Marín a quien le tengo un enorme aprecio, respeto y admiración, por darme la oportunidad de prepararme en este proceso de la maestría. Agradezco todo su esfuerzo y el tiempo que dedico en capacitarme de la mejor manera, por su acompañamiento durante la realización de la tesis, por todos sus consejos, apoyo y su paciencia infinita. Agradezco inmensamente que durante estos años haya compartido conmigo todo su conocimiento y experiencia, por haberme incursionado en el estudio de la biología reproductiva de plantas y en un grupo tan fascinante como lo son las bromelias y especialmente por haberme confiado sus *Werauhias*. Por todo eso y más, muchísimas gracias.

“Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Biología.”



Dr. Adam Karremans Lok

Representante del Decano Sistema de Estudios de Posgrado



Dr. Alfredo Cascante Marín

Director de Tesis



Dr. Eric Fuchs Castillo

Asesor



Dr. Eduardo Chacón Madrigal

Asesor



Dr. Federico Albertazzi Castro

Representante del Director del Programa de Posgrado en Biología



Stephane María Núñez Hidalgo

Candidata

## Tabla de contenidos

Dedicatoria .....	ii
Agradecimientos .....	iii
Hoja de aprobación.....	iv
Resumen general .....	viii
Abstract .....	xi
Prefacio .....	xiii
Capítulo I:	
Los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae Juss. (Poales): una revisión sistemática bibliográfica.....	1
Resumen (319 palabras).....	1
Introducción .....	2
Materiales y métodos .....	6
Búsqueda y selección de información.....	6
Agrupamiento de datos para el análisis.....	7
Componentes del sistema reproductivo.....	7
Presentación y análisis de datos .....	8
Resultados .....	10
Representación de la información seleccionada.....	10
Distribución de la Auto-compatibilidad en Bromeliaceae .....	11
Capacidad de Auto-fertilización automática en Bromeliaceae .....	12
Asociación entre SCI y AFI y barreras reproductivas presentes.....	13
Frecuencia de Agamospermia en Bromeliaceae .....	13
Discusión.....	14
Aspectos generales de la información recopilada .....	14
Tendencia de los sistemas reproductivos sexuales en Bromeliaceae .....	15
Aspectos metodológicos.....	18
Conclusiones y recomendaciones de estudios futuros .....	19
Literatura citada .....	22
Figura 1. ....	47
Material suplementario .....	58
Capítulo II:	

Auto-fertilización y aseguramiento reproductivo en bromelias epífitas del género <i>Werauhia</i> J. R. Grant (Poales, Bromeliaceae) en un bosque montano, Costa Rica. ....	76
Resumen (318 palabras).....	76
Introducción .....	77
Materiales y métodos .....	80
Sitio de estudio.....	80
Especies de estudio .....	81
Biología floral .....	81
Polinizadores y visitantes florales.....	82
Sistemas reproductivos sexuales .....	83
Evaluación de posibles efectos de endogamia .....	85
Aseguramiento reproductivo y grado de limitación de polen .....	86
Resultados .....	88
Biología floral .....	88
Polinizadores y visitantes florales.....	89
Sistemas reproductivos sexuales .....	90
Efectos de endogamia .....	91
Aseguramiento reproductivo y limitación de polen .....	92
Discusión.....	92
Sistema de Polinización y Sistema Reproductivo .....	92
Limitación de polen y aseguramiento reproductivo.....	94
Conclusiones .....	97
Literatura citada .....	99
Cuadro 1.....	120
Figura 1. ....	125
Material suplementario .....	131
Capítulo III:	
Coexistencia reproductiva en bromelias epífitas del género <i>Werauhia</i> J.R. Grant (Bromeliaceae) en un bosque montano, Costa Rica. ....	135
Resumen (282 palabras).....	135
Introducción .....	136
Materiales y métodos .....	140
Sitio de estudio.....	140

Especies de estudio .....	140
<i>Índices de Aislamiento Reproductivo (RI)</i> .....	141
Mecanismo de Aislamiento Reproductivo Pre-polinización.....	141
Mecanismos de Aislamiento Reproductivo Post-polinización.....	142
Contribución de cada barrera y aislamiento reproductivo total .....	144
Resultados .....	144
Aislamiento en la fenología floral.....	144
Aislamiento floral mecánico .....	145
Aislamiento por incompatibilidad interespecífica y producción de semillas.....	145
Aislamiento por viabilidad de semillas .....	146
Contribución de cada barrera y aislamiento reproductivo total .....	146
Discusión.....	146
Mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización.....	147
Fenología floral .....	147
Morfología floral.....	148
Mecanismos de aislamiento post-polinización.....	149
Incompatibilidad inter-específica y vigor híbrido.....	149
Otros mecanismos de aislamiento reproductivo.....	151
Conclusiones .....	152
Literatura citada .....	154
Cuadro 1 .....	174
Figura 1 .....	175
Material suplementario .....	179

## Resumen general

La auto-fertilización es un cambio evolutivo en los sistemas reproductivos sexuales de las plantas con flores que conlleva el surgimiento de auto-compatibilidad y la capacidad de auto-polinización autónoma. Este fenómeno ha ocurrido en varios grupos de angiospermas de forma independiente y se interpreta como una solución evolutiva a corto plazo al problema de limitación de polen. A pesar de los efectos negativos asociados a la endogamia que conlleva la auto-fertilización en plantas, su persistencia en diferentes grupos ha sido explicada a partir de varias hipótesis, sin embargo, la hipótesis de aseguramiento reproductivo propuesta por C. Darwin ha sido la idea mayormente aceptada y difundida en varios estudios. No obstante, la evidencia experimental que respalda dicha hipótesis es escasa. El estudio de la variación de los sistemas reproductivos sexuales en las angiospermas ha sido de interés en las últimas décadas, particularmente en la familia Bromeliaceae Juss. (monocotiledóneas exclusivas del Neotrópico), la cual muestra un alto potencial de rápida especiación y radiación adaptativa. Como preámbulo de la investigación experimental se realizó una revisión sistemática bibliográfica sobre los sistemas reproductivos sexuales en Bromeliaceae y que incluyó estudios basados en polinizaciones controladas durante el periodo (1994 – 2020), para la cual se encontró que en la familia existe una tendencia hacia la auto-compatibilidad (58 %, n= 161 registros (136 spp.)) y una moderada cantidad de especies muestran algún grado de autogamia (41 %, n=138). En estudios previos sobre los sistemas reproductivos en las bromelias, se ha sugerido que la auto-fertilización cumple una función de aislamiento reproductivo, ya que otras barreras que se expresan previo a la polinización son débiles. Sin embargo, esta propuesta no está acompañada de información que permita respaldar esta o alguna otra hipótesis sobre el mantenimiento de la auto-fertilización en Bromeliaceae. Este trabajo tiene el propósito de aumentar el conocimiento sobre los sistemas reproductivos de la familia Bromeliaceae y evaluar la predominancia y función evolutiva de la auto-fertilización en el género *Werauhia* J. R. Grant. Se investigó la biología reproductiva de cuatro especies (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata*, *W. subsecunda*) que coexisten de forma simpátrica en un bosque montano en los Cerros de la Carpintera (Cartago, Costa Rica) y que se localizan en las estribaciones al norte de la Cordillera de Talamanca. Se evaluó experimentalmente su posible función como una estrategia de aseguramiento reproductivo o como mecanismo de aislamiento reproductivo. El trabajo se dividió en dos componentes, (1) el análisis del sistema reproductivo y de polinización y (2) la determinación de la magnitud y contribución de diferentes barreras reproductivas. Para la primera parte se realizaron manipulaciones de polinizaciones



controladas para determinar el sistema reproductivo de las especies de estudio y se determinó su importancia como estrategia de aseguramiento reproductivo. Las especies mostraron un alto grado de auto-compatibilidad ( $SCI \geq 0.86$ ) y autogamia ( $AFI \geq 0.53$ ), sin evidencia de agamospermia o depresión endogámica significativa en la producción y germinación de semillas. La auto-polinización espontánea ocurre al final de la vida de la flor. Las especies presentaron rasgos florales típicos del síndrome de polinización por murciélagos, aunque la visitación registrada por medio de cámaras trampa de estos polinizadores fue baja. El bajo éxito reproductivo de flores emasculadas en condiciones de polinización natural indica limitación de polen. La contribución de la autogamia al éxito reproductivo medida en dos años consecutivos varió entre 0.18 – 0.80 según el *Índice de Aseguramiento Reproductivo*. En la segunda parte de este trabajo y con el fin de comprender los mecanismos que permiten la coexistencia e independencia evolutiva en el grupo de bromelias de estudio, se examinó la fuerza y contribución de diferentes mecanismos de aislamiento reproductivo (pre- y pos-polinización). El aislamiento temporal por fenología floral mostró en general valores altos del *Índice de Aislamiento* ( $RI = 0.50 - 1.00$ ) y que junto con diferencias en el tamaño de la flor y posición de las estructuras reproductivas permiten el aislamiento mecánico debido a que el polen es depositado en diferentes partes del cuerpo del polinizador, lo anterior sugiere una importante contribución de las barreras pre-polinización al aislamiento reproductivo. Los cruces manuales inter-específicos mostraron incompatibilidad completa entre especies, excepto para la combinación *W. subsecunda* (receptor de polen)  $\times$  *W. ampla* (donador de polen) con un éxito reproductivo moderado y con una baja producción de semillas y menor capacidad de germinación. El mecanismo de auto-fertilización tardía en las especies de estudio asegura la producción de semillas cuando las oportunidades de polinización cruzada fallaron. El bajo éxito reproductivo en condiciones naturales, asociado a una baja visitación de los polinizadores, reforzaría la persistencia de la auto-fertilización, cuya contribución al éxito reproductivo fue significativa. Aunque se ha propuesto que la auto-fertilización se mantiene como mecanismo de aislamiento reproductivo en Bromeliaceae, los resultados de este estudio apuntan a lo contrario y que es un mecanismo de aseguramiento reproductivo. Otros mecanismos reproductivos que se expresan durante la fase de pre-polinización (fenología y diseño floral) son probablemente más importantes para el aislamiento reproductivo entre las especies estudiadas de *Werauhia*. La descripción adecuada de los mecanismos de auto-polinización y la evaluación experimental apropiada de las hipótesis son necesarias para comprender la evolución y mantenimiento de la auto-fertilización en este grupo tan diverso de monocotiledóneas. Además, la estimación adecuada de los mecanismos de aislamiento reproductivo en otros grupos de

bromelias permitirá comprender cómo coexisten las especies y se mantiene la alta diversidad de este grupo de plantas en los ecosistemas neotropicales.

## Abstract

Self-fertilization is an evolutionary change in the sexual reproductive systems of flowering plants that entails the emergence of self-compatibility and the capacity for autonomous self-pollination. This phenomenon has occurred in several groups of angiosperms independently and is interpreted as a short-term evolutionary solution to the problem of pollen limitation. Despite the negative effects associated with inbreeding due to self-fertilization in plants, the persistence of selfing in different groups has been explained from various hypotheses, however, the reproductive assurance hypothesis proposed by C. Darwin has been the idea mostly accepted and disseminated in various studies. Even though, the experimental evidence supporting this hypothesis is scarce. The study of the variation of sexual reproductive systems in angiosperms has been of particular interest in recent decades, mainly in the Bromeliaceae Juss. family (monocots exclusive to the Neotropics), a group that shows a high potential for rapid speciation and adaptive radiation. As a preamble to the experimental research, a systematic bibliographic review on the sexual reproductive systems from Bromeliaceae was carried out. This review included studies based on controlled pollinations during the period (1994 - 2020), for which it was found that there is a trend in the family towards self-compatibility (58%, n = 161 records (136 spp.)) and a moderate number of species showed some degree of autogamy (41%, n = 138). In previous studies on the reproductive systems in bromeliads, it has been suggested that self-fertilization functions as a reproductive isolation mechanism, since other barriers that are expressed prior to pollination are weak. However, this proposal is not accompanied by information to support this or any other hypothesis on the maintenance of self-fertilization in Bromeliaceae. This work has the purpose of increasing the knowledge about the reproductive systems of the Bromeliaceae family and evaluating the predominance and evolutionary function of self-fertilization in the genus *Werauhia* J. R. Grant. The reproductive biology of four species (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata*, *W. subsecunda*) that coexist sympatrically in a montane forest in the Cerros de La Carpintera (Cartago, Costa Rica) located on the foothills north of the Cordillera de Talamanca. The possible function of selfing as a reproductive assurance strategy or as a reproductive isolation mechanism was experimentally evaluated. The research work was divided into two components, (1) the analysis of the reproductive system and pollination, and (2) the determination of the magnitude and contribution of different reproductive barriers. Firstly, controlled pollination treatments were carried out to determine the reproductive system of the study species and its importance as a reproductive assurance strategy was determined. The species showed a high degree of self-compatibility ( $SCI \geq 0.86$ ) and

autogamy ( $AFI \geq 0.53$ ), without evidence of agamospermy or significant inbreeding depression in seed production and germination. Spontaneous self-pollination occurs at the end of the flower's life. The species showed typical floral traits of the bat pollination syndrome, although the visitation recorded by means of camera traps of these pollinators was low. The low reproductive success of emasculated flowers under natural pollination conditions indicates pollen limitation. The contribution of autogamy to reproductive success measured in two consecutive years ranged from 0.18–0.80, according to the *Reproductive Assurance Index*. In the second part of this work and to understand the mechanisms that allow coexistence and evolutionary independence in the group of bromeliads under study, the strength and contribution of different reproductive isolation mechanisms (pre- and post-pollination) were examined. The temporal isolation by floral phenology showed high values of the *Isolation Index* ( $RI = 0.50 - 1.00$ ), that along with differences in flower size and position of reproductive structures (stamens and stigma) allow an efficient mechanical isolation since the pollen is deposited in different parts of the pollinator's body, these results suggest a great contribution of pre-pollination barriers to reproductive isolation. Manual cross-pollinations resulted in complete incompatibility between species, except for the combination *W. subsecunda* (pollen receptor)  $\times$  *W. ampla* (pollen donor) that showed moderate reproductive success with low seed production and germination capacity. The late self-pollination mechanism associated to flower senescence in the study species ensures seed production when cross-pollination opportunities have failed. Low reproductive success under natural conditions, associated with low pollinator visitation, would reinforce the persistence of self-fertilization, which contribution to reproductive success was significant. Although it has been proposed that self-fertilization is maintained as a reproductive isolation mechanism in Bromeliaceae, the results of this study point out to an alternative explanation, as a reproductive assurance mechanism. Other reproductive mechanisms that are expressed during the pre-pollination phase (phenology and flower design) are likely more important for reproductive isolation among the studied *Werauhia* species. The detailed description of self-pollination mechanisms and proper experimental evaluation of hypotheses are necessary to understand the evolution and maintenance of self-fertilization in this very diverse group of monocots. Moreover, the adequate estimation of the reproductive isolation mechanisms in other groups of bromeliads will allow the understanding of coexistence and high species diversity of Bromeliaceae in Neotropical ecosystems.

## Prefacio

En este trabajo de tesis para optar al grado de Magister Scientiae en Biología se presentan los resultados de una investigación biológica sobre la función de la auto-fertilización y los mecanismos de aislamiento reproductivo en los sistemas reproductivos sexuales de plantas del género *Werauhia* J. R. Grant de la familia Bromeliaceae Juss. El documento está organizado en tres capítulos, cada uno escrito siguiendo el formato de publicación de un artículo científico. En el capítulo I se presenta una revisión bibliográfica que describe el panorama actual del estudio de los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae y donde se analiza la frecuencia y distribución de cada uno de los componentes de los sistemas reproductivos sexuales, correspondientes a: (i) la auto-compatibilidad, (ii) la auto-fertilización y (iii) la agamosperma. Estos aspectos se analizan en relación con la subfamilia, hábito de crecimiento y sistema de polinización de las especies. En el capítulo II para un grupo de cuatro especies del género *Werauhia* (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda*) que coexisten de forma simpátrica en un bosque montano en Costa Rica, se evalúa de forma experimental la función de la auto-fertilización (el comportamiento reproductivo más frecuente en los sistemas reproductivos del género) como posible estrategia de aseguramiento reproductivo. Este capítulo contempla: (i) la descripción de la biología y comportamiento floral, (ii) el sistema reproductivo sexual y (iii) el sistema de polinización de las especies. Finalmente, en el capítulo III con el fin de comprender cómo se mantiene la coexistencia reproductiva en este mismo grupo de especies, se examinó la fuerza y contribución de los mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización: (i) barreras temporales relacionadas con la fenología floral poblacional y (ii) barreras florales mecánicas; además de las barreras de aislamiento post-polinización: (i) pre-cigóticas relacionados con los sistemas de incompatibilidad inter-específica y (ii) post-cigóticas relacionadas con la producción y la viabilidad de semillas híbridas.



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

SEP Sistema de  
Estudios de Posgrado

**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, Stephanie Niñez Hidalgo, con cédula de identidad 01 14030773, en mi condición de autor del TFG titulado Sistemas reproductivos en bromelias epífitas del género Werauhia J.R. Grant (Bromeliaceae: Tillandsioideae): aseguramiento reproductivo y mecanismos de coexistencia reproductiva

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI  NO \*

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no solo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## Capítulo I:

### Los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae Juss. (Poales): una revisión sistemática bibliográfica.

#### Resumen (319 palabras)

**Introducción:** El estudio de los sistemas reproductivos sexuales en las angiospermas ha sido de particular interés en las últimas décadas y principalmente en la familia Bromeliaceae, un grupo neotropical con un alto potencial de rápida especiación.

**Objetivo:** Actualizar el conocimiento y tratar de comprender la diversidad y distribución de los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae.

**Metodología:** Se realizó una revisión sistemática bibliográfica a partir de la recopilación de investigaciones basadas en polinizaciones controladas (1994–2020) que examinaron los componentes de los sistemas reproductivos (auto-compatibilidad, auto-fertilización y agamospermia). Los datos se analizaron en relación con la subfamilia, sistemas de polinización y hábito de crecimiento. Se consideraron además aspectos metodológicos relacionados con el tamaño muestral.

**Resultados principales:** Se recopilaron 161 registros (136 spp.) mayormente de las subfamilias Tillandsioideae, Pitcairnioideae y Bromelioideae. En general, la familia muestra tendencia hacia la auto-compatibilidad y auto-fertilización. No obstante, en Bromelioideae la tendencia es hacia mayor incompatibilidad. La agamospermia ocurre en baja frecuencia y se ha documentado mayormente en Pitcairnioideae. Las especies polinizadas por murciélagos exhiben mayor auto-compatibilidad. No se encontró relación significativa con el crecimiento epífita o terrestre. En las investigaciones recopiladas existe gran variación en la cantidad de individuos y flores utilizadas en los tratamientos. La descripción de los sistemas reproductivos se basa exclusivamente en estimaciones a nivel de poblaciones individuales.

**Conclusiones:** A pesar de la tendencia general a nivel de familia, la variación en los sistemas reproductivos a nivel de subfamilias y géneros dentro de éstas es significativa. El conocimiento de los sistemas reproductivos en subfamilias menos diversas y evolutivamente más ancestrales es escaso. Es importante la descripción detallada de los mecanismos florales que facilitan la auto-fertilización para comprender el mantenimiento de este carácter reproductivo en la familia. La estandarización de los tamaños de muestra en los tratamientos experimentales reduciría sesgos en las estimaciones y el estudio de varias poblaciones permitiría conocer la variabilidad intra-específica de los sistemas reproductivos en Bromeliaceae.

**Palabras clave:** auto-compatibilidad, autogamia, agamospermia, limitación de polen, polinización.

## Introducción

Un tema de particular interés en la evolución de las plantas angiospermas ha sido la variación de los sistemas reproductivos sexuales, como resultado de los cambios morfológicos y fisiológicos a nivel floral de las especies (Fryxell, 1957; Barrett, 2003; Raduski et al., 2012). Principalmente, se ha propuesto que la especialización de los sistemas reproductivos tiene la función de promover el exocruzamiento y generar diversidad genética en las especies, evitando los efectos negativos de la endogamia, sin embargo, en algunos grupos de plantas esta regla no siempre se cumple (Darwin, 1876).

Los sistemas reproductivos sexuales en plantas se definen como la forma general de reproducción y su estudio involucra aspectos como: la auto-incompatibilidad (rechazo de una planta a su propio polen), la capacidad de fecundarse de manera autónoma (sin intervención de polinizadores); así como la capacidad de producir semillas sin que ocurra fecundación (agamospermia) (Neal & Anderson, 2005). La auto-incompatibilidad es el sistema reproductivo ancestral de las angiospermas (Barrett, 2013) y su pérdida que conduce a la auto-compatibilidad, se ha reconocido como el cambio evolutivo más común que ha surgido de forma independiente en varios grupos de plantas sin relación evolutiva y además se considera irreversible (Stebbins, 1957). El grado de auto-compatibilidad en los sistemas reproductivos sexuales de las plantas se determina a través de tratamientos de polinización controlados y se expresa por medio del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI, siglas en idioma inglés) (Lloyd, 1965; Lloyd & Schoen, 1992; Becerra & Lloyd, 1992). Este índice refleja un parámetro cuantitativo continuo del sistema reproductivo y teóricamente va desde 0 (totalmente auto-incompatible) a 1 (totalmente auto-compatible). No obstante, en la literatura del tema existe la práctica de categorizar las especies de forma dicotómica como “auto-compatibles” o “auto-incompatibles” utilizando valores del SCI predefinidos por los autores, así por ejemplo, algunos definen a una especie como auto-compatible si  $SCI \geq 0.8$  (Bawa, 1974),  $SCI \geq 0.75$  (Lloyd & Schoen, 1992) o en algunos casos consideran valores más bajos para su interpretación, como un  $SCI \geq 0.3$  para referirse a una especie como compatible (Ramírez & Brito, 1990).



Asociado frecuentemente al desarrollo de la auto-compatibilidad en plantas está la capacidad de producir progenie por auto-polinización autónoma o auto-fertilización (autogamia). Las especies autogámicas se pueden auto-polinizar de forma espontánea, es decir, sin la ayuda de vectores de polinización (Eckert et al., 2006). Estas especies cuentan con mecanismos florales que propician la deposición del polen sobre el estigma de la misma flor. Estos mecanismos incluyen modificaciones que reducen la separación espacial entre el estigma y las anteras (ausencia de hercogamia) y que aumentan el traslape temporal entre la receptividad del pistilo y la presentación del polen (ausencia de dicogamia) (Lloyd & Webb, 1986; Webb & Lloyd, 1986).

A pesar de los efectos negativos por depresión endogámica y el descuento de polen y semillas que se le atribuyen a la auto-cruzamiento (Darwin, 1876; Eckert et al., 2006), se considera que la transición de los sistemas reproductivos sexuales de las plantas hacia la auto-fertilización es el resultado de una estrategia de aseguramiento reproductivo, que evolucionó debido a condiciones ecológicas adversas que limitan la disponibilidad de polinizadores o plantas conespecíficas para reproducirse (Darwin, 1876; Eckert et al., 2006). Teóricamente, la auto-fertilización puede representar una ventaja reproductiva que es evolutivamente estable cuando la adecuación (“fitness”) de la progenie auto-fertilizada sobrepasa la mitad de la adecuación de la progenie exo-cruzada y no existen problemas de descuento de polen y óvulos ni depresión endogámica (Eckert et al., 2006). El surgimiento de la auto-fertilización lleva a la aparición de los sistemas reproductivos mixtos en plantas, que se pueden definir como la producción de progenie por medio del auto- y exo-cruzamiento (Barrett, 2014).

La agamosperma o apomixis es un componente de los sistemas reproductivos de las plantas que muchas veces es ignorado debido a la dificultad de su detección, ya que la producción de semillas por este mecanismo puede ser confundida por auto-fertilización (Richards et al., 2003). Al igual que la auto-fertilización espontánea, la agamosperma también puede brindar aseguramiento reproductivo cuando ocurre de manera independiente a la polinización (Richards et al., 2003; Eckert et al., 2006). La progenie por agamosperma representa réplicas idénticas del material genético de la planta materna, por lo tanto, a diferencia del auto-cruzamiento, la descendencia no tiene el riesgo de sufrir efectos negativos de la endogamia, sin embargo, sí tiene la desventaja de la falta de variabilidad genética y de que no existe una purga de genes deletéreos como sí ocurre con el auto-cruzamiento (Eckert et al., 2006). La agamosperma es aparentemente poco común entre las plantas con flores (<

8 %) (Wilcock & Neiland, 2002; Richards et al., 2003), pero su estimación no siempre se incluye en los estudios experimentales (Raduski et al., 2012).

En general, en las angiospermas se ha encontrado una mayor tendencia de los sistemas reproductivos sexuales hacia la auto-compatibilidad (Raduski et al., 2012) y hacia la evolución de la auto-fertilización que determina la presencia de sistemas reproductivos mixtos (Kalisz et al., 2004; Goodwillie et al., 2005). El estudio de la variación de los sistemas reproductivos sexuales entre especies y poblaciones de plantas permiten conocer condiciones particulares del ambiente, como se denota con la asociación entre especies autóгамas o agamospérmicas y sitios con condiciones ambientales adversas o perturbaciones ecológicas frecuentes (Richards et al., 2003). Desde el punto de vista macro-evolutivo, los sistemas reproductivos influyen en los procesos de especiación y diversificación de las plantas (Ferrer & Good, 2012; Wright et al., 2013). En linajes de especies auto-compatibles y que tienden a auto-fertilizarse con mayor frecuencia se ha observado que presentan altas tasas de extinción en un largo plazo evolutivo debido a la reducción del potencial de adaptación evolutiva como consecuencia de una limitada variación genética a nivel intrapoblacional y una mayor divergencia interpoblacional (Stebbins, 1957; Wright et al., 2013). Por el contrario, desde el aspecto micro-evolutivo una tendencia hacia la evolución de la auto-fertilización puede compensar por limitaciones ecológicas en los servicios de polinización y convertirse en un mecanismo para el rescate de las poblaciones ante los efectos adversos del cambio ambiental (Gomulkiewicz & Holt, 1995). Por lo tanto, la investigación de los sistemas reproductivos puede ayudar a explicar parte de la historia evolutiva de un linaje de plantas (Wright et al., 2013) y estimar el potencial de resiliencia de las especies ante cambios ambientales que modifiquen las condiciones de polinización y atenten contra la persistencia de sus poblaciones.

Un grupo de plantas que ha recibido un particular interés de estudio es la familia Bromeliaceae, probablemente debido a su potencial de rápida especiación en diferentes nichos ecológicos (radiación adaptativa) del Neotrópico que reflejan su éxito reproductivo (Benzing, 2000; Givnish et al., 2014). Las “bromelias”, como comúnmente se conocen, pertenecen a una familia de monocotiledóneas bastante diversa y difundida casi exclusivamente en la América Tropical y Subtropical y que muestra una diversidad de hábitos de crecimiento desde epífita, terrestre o facultativo (epífita y terrestre) (Smith & Downs, 1974, 1977, 1979; Benzing, 2000). Se estima su diversidad en alrededor de 3679 especies en 79 géneros (Gouda & Butcher, 2021) y recientemente se

reconocen ocho subfamilias: Brocchinioideae y Lindmanioideae, los linajes más basales, además de Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae y Bromelioideae, estos dos últimos grupos se consideran más recientemente derivados (Givnish et al., 2007, 2011). Se ha propuesto que el hábito terrestre y la polinización por insectos son las condiciones ancestrales en el grupo (Benzing, 2008; Givnish et al., 2014). La familia Bromeliaceae presenta una gran diversidad de morfologías florales (Givnish et al., 2011) que se refleja en la diversidad de sus síndromes de polinización (Benzing, 2000; Kessler & Krömer, 2000; Krömer, Kessler, Lohaus, & Schmidt-Lebuhn, 2008) en los que destaca la ornitofilia (colibrís), la quiropterofilia (murciélagos) y en menor grado la entomofilia (insectos) (Benzing, 2000; Kessler & Krömer, 2000; Krömer, Kessler, & Herzog, 2006; Aguilar-Rodríguez, Krömer, & Tschapka, 2019). A pesar de que las bromelias presentan síndromes de polinización especializados que promueven el exo-cruzamiento, también se pueden encontrar grupos capaces de auto-fertilizarse (Smith & Downs, 1977; Benzing, 2000).

A la fecha no existe en la literatura científica una revisión formal de los sistemas reproductivos de Bromeliaceae. Inicialmente, algunos autores expusieron que predominaba el exo-cruzamiento (McWilliams, 1974; Benzing, 2000). McWilliams (1974) mencionó que la mayoría de las especies de Bromeliaceae presentan sistemas reproductivos que facilitan el exo-cruzamiento y Benzing (2000) basado en datos recopilados de estudios sobre morfología floral y polinizaciones controladas, sugirió que la auto-incompatibilidad era el mecanismo prevaleciente en las subfamilias Bromelioideae y Tillandsioideae, y probablemente también en Pitcairnioideae, pero que requerían confirmación. Posteriormente, en el estudio de Matallana et al. (2010) sobre los sistemas reproductivos sexuales de un grupo de especies simpátricas de bromelias, propusieron que en la familia predominaban las especies auto-compatibles y que la auto-fertilización era común. Raduski et al. (2012) en su revisión general de los sistemas reproductivos en angiospermas, encontraron una tendencia hacia sistemas reproductivos bimodales con predominancia hacia especies auto-compatibles; este estudio incluyó resultados para 82 especies de la familia Bromeliaceae. La asignación de los sistemas de compatibilidad en los estudios mencionados se realizó utilizando valores de corte del *Índice de Auto-Incompatibilidad* (ISI, siglas en inglés) y que es igual a  $1 - \text{SCI}$  o *Índice de Auto-Compatibilidad*. En Raduski et al. (2012) una especie es auto-compatibile cuando  $\text{ISI} < 0.20$  (es decir,  $\text{SCI} \geq 0.80$ ). En Matallana y colaboradores,  $\text{ISI} < 0.30$  denota una especie auto-incompatible y  $\text{ISI} \geq 0.30$  para especies con auto-compatibilidad parcial o total.

Con el fin de actualizar el conocimiento y comprender la diversidad, magnitud y distribución de los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae, se realizó una revisión sistemática bibliográfica que recopiló resultados de investigaciones basadas en tratamientos de polinización controlados. Se buscó dar un panorama actual sobre la diversidad de estudios que tratan los sistemas reproductivos a nivel taxonómico y geográfico en la familia, además de analizar la frecuencia y distribución de cada uno de los componentes de los sistemas reproductivos sexuales, correspondientes a: (i) la auto-compatibilidad, (ii) la auto-fertilización y (iii) la agamosperma; en relación con la subfamilia, hábito de crecimiento y sistema de polinización de las especies. También se examinaron aspectos metodológicos empleados en cada investigación.

## **Materiales y métodos**

### Búsqueda y selección de información

El protocolo de búsqueda, selección y presentación de información se basó en las pautas de SWiM (Synthesis Without Meta-analysis) (Campbell et al., 2020) (Fig. S1). Se realizó una búsqueda sistemática de trabajos publicados sobre sistemas reproductivos sexuales de bromelias en revistas científicas y tesis de posgrado en los buscadores de internet Scientific Electronic Library Online (SciELO: <https://www.scielo.org/es/>), la Web of Knowledge (ISI: <https://login.webofknowledge.com/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.com>), de estudios y sus referencias bibliográficas realizados en el periodo 1994 – 2020 (mayo). Se utilizaron las siguientes palabras clave y sus combinaciones: “reproductive systems”, “breeding systems” y “reproductive biology”, acompañado de las palabras “and” y “Bromeliaceae”. Se incluyeron trabajos publicados en revistas científicas y tesis de grado en idioma inglés, español y portugués.

El criterio fundamental para incluir un trabajo consistió en corroborar que el estudio analizara los sistemas reproductivos por medio de los tratamientos de auto-polinizaciones y polinizaciones cruzadas manuales. A partir de los estudios seleccionados, adicionalmente se recopiló información sobre los siguientes tratamientos de polinización: (i) auto-polinización espontánea, (ii) agamosperma y (iii) polinización natural (control). Con el fin de determinar la heterogeneidad experimental del tamaño muestral se anotó el número de plantas tratadas y de flores manipuladas en cada tratamiento.

También se incluyó el país de procedencia del estudio y el tipo de barreras reproductivas a la auto-fertilización (i.e., hercogamia y dicogamia) cuando fueron reportadas.

#### Agrupamiento de datos para el análisis

El análisis de la distribución de los componentes de los sistemas reproductivos se realizó en función de las variables: “subfamilia”, “hábito de crecimiento” y “síndrome de polinización”. La clasificación taxonómica dentro de la familia Bromeliaceae ha variado en las últimas décadas como consecuencia de estudios basados en ADN que propusieron nuevas relaciones filogenéticas a nivel de subfamilia, por lo que se siguió la clasificación propuesta por Givnish et al. (2011). Cuando los estudios no presentaron información sobre el hábito de crecimiento, se obtuvo a partir de la consulta de los trabajos de Smith & Downs (1974, 1977, 1979) o la descripción “tipo” de la especie. En el caso de los estudios que no presentaron información sobre el síndrome de polinización, se utilizó la información de los rasgos morfológicos florales de las especies o la información a nivel de género para asignar el síndrome de polinización usando como referencia el trabajo de Faegri & van der Pijl (1979).

#### Componentes del sistema reproductivo

Para determinar el sistema reproductivo de las especies en los estudios que se aplicaron controles de polinización, utilizando los datos crudos reportados se calculó: (i) el *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI), (ii) el *Índice de Auto-fertilización* (AFI) y (iii) el *Índice de Agamospermia* (AGI). Estos índices se calculan con las siguientes fórmulas:

*Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) (Lloyd & Schoen, 1992):

$$\text{SCI} = \frac{\text{Proporción de frutos auto-polinización manual}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}}$$

Donde SCI = 0, especie completamente incompatible y SCI=1, especie completamente auto-compatible.

*Índice de Auto-Fertilidad (AFI)* (Lloyd & Schoen, 1992):

$$AFI = \frac{\text{Proporción de frutos auto-polinización espontánea}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}}$$

Donde AFI = 0, especie completamente autógama y AFI=1, especie completamente no autógama.

*Índice de Agamospermia (AGI)* (Ramírez & Brito, 1990).

$$AGI = \frac{\text{Proporción de frutos agamospermia}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}}$$

Donde AGI = 0, especie completamente agamospérmica y AGI=1, especie completamente no agamospérmica.

El éxito reproductivo de cada tratamiento de polinización es posible también calcularlo con el promedio de semillas por fruto (Lloyd & Schoen, 1992), sin embargo, solo un tercio de los estudios (32 %) seleccionados presentaron este tipo de resultados. Algunos autores mencionan la mayor facilidad de estimar el número de flores y frutos producidos por planta (Ramírez & Nassar, 2017), o es preferible para evitar los posibles efectos de depresión endogámica u otros fenómenos que puedan afectar el número de semillas (Raduski et al., 2012). No obstante, se ha encontrado que los resultados calculados con frutos y semillas muestran una relación positiva significativa entre sí (Ramírez & Nassar, 2017). Por lo anterior, aquí solo se consideraron los resultados del éxito reproductivo reportado como el número de frutos.

#### Presentación y análisis de datos

Para describir la magnitud y distribución de los componentes del sistema reproductivo a nivel de familia, se utilizó un histograma con la distribución de frecuencias de los valores de cada índice (SCI, AFI y AGI). Para tres estudios en que aplicaron los tratamientos en diferentes años se sumó el número de flores y frutos entre años. Para 18 especies se encontró información procedente de diferentes

artículos, cada dato se consideró como una observación independiente para documentar la variabilidad potencial de los componentes del sistema reproductivo entre poblaciones.

Para determinar la posible relación entre la auto-compatibilidad, auto-fertilización o agamospermia con variables taxonómicas y ecológicas, se analizó la distribución de los valores de los índices con respecto a: i) la subfamilia (Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae y Bromelioideae), ii) el síndrome de polinización (melitofilia, falanofilia, ornitofilia y quiropterofilia) y iii) el hábito de crecimiento (epífita, terrestre o facultativa). Los datos se resumen por medio de gráficos de caja que muestran la distribución de los valores por cuartiles, valores mínimos y máximos, valor de la mediana, valor promedio y observaciones atípicas.

Una inspección previa de la distribución de los valores de los índices indicó una distribución bimodal o no normal que previene el uso de métodos estadísticos paramétricos y que invalidan la realización de un meta-análisis (Jackson & White, 2018). Para determinar la significancia de las diferencias entre las categorías de cada variable se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 2010). Cuando se detectaron diferencias significativas se utilizaron comparaciones pareadas con la Prueba de Wilcoxon (Wilcoxon, 1945) para determinar cuáles categorías diferían significativamente entre sí. La significancia estadística por comparaciones múltiples se ajustó con la corrección de Bonferroni (Zar, 2010). Los análisis se realizaron con el programa estadístico R (R Core Team, 2019) con las funciones del paquete base, el paquete *multcomp* (Hothorn, Bretz, & Westfall, 2008) y se visualizó con el paquete *ggplot2* (Wickham, 2016). Las subfamilias Brocchinioideae y Lindmanioideae se excluyeron del análisis por subfamilia por tener un solo registro cada una (*Brocchinia reducta* y *Lindmania guianensis*, respectivamente). El síndrome de polinización falanofilia se excluyó del análisis respectivo porque solo estuvo presente en tres especies (*Bromelia hieronymi*, *Pitcairnia albiflos* y *Tillandsia dasyliriifolia*).

Con el fin de examinar la posible relación entre el grado de auto-compatibilidad y el desarrollo de la capacidad de auto-fertilizarse de las especies, se realizó una correlación lineal simple entre los índices respectivos por medio de la prueba no paramétrica de “Spearman” (Zar, 2010). El análisis se realizó en R (R Core Team, 2019) con el paquete *ggprbr* (Alboukadel, 2019).

## Resultados

Los tres componentes del sistema reproductivo incluidos en esta revisión no siempre fueron contemplados en los estudios particulares examinados. Solamente en el 43 % de las especies incluidas en la base de datos se aplicaron todos los tratamientos de polinización, es decir, que aparte de las polinizaciones controladas manuales (auto y exo), también se evaluó la auto-polinización espontánea y agamospermia, que permiten estimar los tres componentes de los sistemas reproductivos.

La mención de la cantidad de individuos utilizados en las manipulaciones de polinización no siempre estuvo presente o fue explícita. En 28 % de las especies estudiadas se omite el tamaño muestral de plantas utilizado. Cuando se reporta, se observa gran variación en el número de individuos utilizados, que va en un rango de 2-99 plantas entre las diferentes publicaciones y tratamientos (Fig. S1). Para los tratamientos de polinizaciones controladas (manual y cruzada) y de auto-polinización automática el tamaño de muestra más frecuentemente utilizado fue bajo ( $\leq 10$  plantas; Fig. S1) Los tratamientos de agamospermia y polinización natural (control) en general comprenden un tamaño mayor de muestra ( $> 10$  individuos; Fig. S1). En cuanto al número de flores manipuladas por tratamiento de polinización, se encontró una variación importante en el tamaño de muestra y que está en un rango de 1 hasta inclusive 5312 flores para un mismo tratamiento. En general, para los tratamientos se encontró común el uso de muestras  $> 20$  flores, especialmente en los tratamientos de auto-polinización automática y natural que probablemente requieren una manipulación menos compleja (Fig. S2).

### Representación de la información seleccionada

La búsqueda inicial reveló un total de 179 estudios publicados, más 35 citas adicionales provenientes de la revisión de referencias en el periodo 1994 – 2020 (mayo). Luego del proceso de revisión y selección, se obtuvo una base de datos a partir de 56 trabajos, provenientes de 49 artículos de revistas indexadas y siete tesis de maestría y doctorado (Fig. S3). La base de datos final contiene 161 registros que representan 136 especies y 24 géneros, distribuidos en cinco subfamilias: Brocchinioideae,



Bromelioideae, Lindmanioideae, Pitcairnioideae y Tillandsioideae (Cuadro S1). Para 18 especies se encontraron varios estudios que analizaron por separado su sistema reproductivo.

Los géneros de bromelias con mayor cantidad de estudios fueron: *Vriesea* (n=37), *Aechmea* (n=24), *Tillandsia* (n=25) y *Pitcairnia* (n=12). En conjunto, estos cuatro géneros abarcaron el 61 % de las especies estudiadas (Fig. 1). La subfamilia más investigada es Tillandsioideae con 75 especies, seguida de Bromelioideae con 61 especies y que también es la que tiene mayor número de géneros investigados (n=13), luego Pitcairnioideae con 23 especies correspondientes a tres géneros. Para las subfamilias Brocchinioideae y Lindmanioideae solo para una especie se encontró información en cada una. Los países en los que se han desarrollado más estudios son: Brasil (n=36), México (n=9) y Costa Rica (n=5) (Fig. 2).

#### Distribución de la Auto-compatibilidad en Bromeliaceae

Los valores del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) mostraron una distribución bimodal y fluctuaron desde SCI = 0 hasta valores extremos de SCI = 2.3 (Fig. 3). El 58 % de los registros presentaron valores de SCI  $\geq$  0.5. El 31.7 % de los registros presentaron valores de SCI  $\geq$  1, por lo que se consideraría como especies completamente auto-compatibles, mientras que el 19.3 % se consideran completamente auto-incompatibles (SCI = 0) (Fig. 4). A nivel de subfamilia, en Pitcairnioideae y Tillandsioideae predominan especies con sistemas de auto-compatibilidad completa (SCI  $\geq$  1, 47.8 % y 40 %, respectivamente), mientras que en Bromelioideae se encontró un patrón opuesto (H = 22.39, df = 2, p < 0.001; Fig. 5A), con una mayor concentración de especies con sistemas de auto-incompatibilidad completo (32.8 % SCI = 0). Para las subfamilias Brocchinioideae y Lindmanioideae, cada una con una observación, se encontraron SCI con valores intermedios con una tendencia hacia la auto-compatibilidad para *Brocchinia reducta* (SCI = 0.7) y en menor medida para *Lindmania guianensis* (SCI = 0.3). Utilizando los valores reportados del promedio de semillas se calculó el SCI, y se observó una tendencia similar a la descrita utilizando datos de éxito reproductivo de frutos ( $R^2 = 0.64$ , p < 0.001, N= 52; Fig. S4).

Dentro de Tillandsioideae, los géneros *Vriesea* y *Werauhia* muestran una tendencia predominantemente auto-compatibile con valores promedio de SCI = 0.9 y 1.2, respectivamente;

mientras que en *Tillandsia* se tiende a la auto-incompatibilidad (SCI promedio = 0.5). En Pitcairnioideae se encontró una tendencia opuesta entre *Pitcairnia* y *Dyckia* (valores promedios de SCI= 1.1 y 0.3, respectivamente) (Fig. S5). A nivel inter-poblacional, para seis de las especies cuyos sistemas reproductivos se analizaron se encontraron valores de SCI contrastantes que sugieren una tendencia hacia la auto-compatibilidad en unas poblaciones, mientras que en otros hay una tendencia contraria (Cuadro S1). Por ejemplo, en *Aechmea distichanta* de Brasil una población se documentó como altamente auto-compatibile mientras que en otra presentó valores intermedios de compatibilidad, SCI = 0.9 y 0.5 (Scrok & Varassin, 2011) y 0.5 (Souza et al., 2017); mientras que en una población en Argentina la misma especie se consideró como auto-incompatible, SCI= 0.1 (Bianchi et al., 2000). Otros ejemplos incluyen a las especies *Edmundoa lindenii* en Brasil, con una población totalmente compatible SCI= 1.0 (Matallana et al., 2010) y en otra casi auto-incompatible 0.1 (Leal et al., 2020), además de *Tillandsia geminiflora* (SCI= 1.6, Matallana et al., 2010; SCI= 0.0, Wolowski et al., 2013), *Vriesea carinata* (SCI= 0.0, Araujo et al., 1994; SCI= 1.0, Wolowski et al., 2013) y *V. longicualis* (SCI= 0.2, Matallana et al., 2010; SCI= 1.4, Wolowski et al., 2013).

Con respecto a los “síndrome de polinización” se encontró que para las especies polinizadas por murciélagos (síndrome de quiropterofilia) una distribución de valores del SCI alrededor de 1, sugiere una tendencia significativa hacia la auto-compatibilidad ( $H = 24.75$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 5B), mientras que en especies con síndromes de entomofilia y ornitofilia se observa un patrón amplio en sus valores de auto-compatibilidad. En relación con el hábito de crecimiento, los valores del SCI no sugieren una tendencia particular asociada a este aspecto ecológico de las especies ( $H= 0.28$ ,  $df=2$ ,  $p= 0.86$ ; Fig. 5C).

#### Capacidad de Auto-fertilización automática en Bromeliaceae

Los valores del *Índice de Auto-Fertilización* mostraron una distribución variable entre AFI = 0 hasta AFI = 2 (Fig. 6). El 41 % de los registros presentaron valores de  $AFI \geq 0.5$ . Un 18.8 % de los registros presentaron un valor de  $AFI \geq 1$ , lo cual indica autogamia completa y un 39.1 % presentaron ausencia de autogamia (AFI = 0) (Fig. 7). Aproximadamente, la mitad de los registros de especies auto-compatibles ( $SCI \geq 0.5$ ) también mostraron una alta capacidad de auto-polinizarse automáticamente (valores del  $AFI \geq 0.5$ ). La distribución de los valores del *Índice de Auto-fertilización* difirieron

significativamente entre las subfamilias ( $H = 10.16$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.01$ ). Las subfamilias Pitcairnioideae y Tillandsioideae mostraron valores significativamente mayores de capacidad de autogamia, con respecto a la familia Bromelioideae (Fig. 8). Para las únicas observaciones de las subfamilias Brocchinioideae y Lindmanioideae, se encontró que *Brocchinia reducta* es autógena (AFI= 1.3) y a *Lindmania guianensis* como incapaz de auto-fecundarse (AFI = 0). No se identificó una tendencia particular en la distribución del índice de auto-fertilidad entre los sistemas de polinización ( $H = 5.13$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.07$ ) y el hábito de crecimiento de las especies ( $H = 2.26$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.32$ ).

#### Asociación entre SCI y AFI y barreras reproductivas presentes

Para el análisis de 138 registros se obtuvo una correlación positiva y significativa ( $r = 0.77$ ,  $r^2 = 0.59$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 9) entre el grado de auto-compatibilidad y la capacidad de auto-polinizarse de forma automática. Se observó una variabilidad alta y no siempre el desarrollo de auto-compatibilidad parece estar ligado a la capacidad de auto-polinizarse, ya que varias especies con un SCI alto no presentaron similar capacidad de auto-fertilizarse (AFI= 0) (Fig. 9). La documentación detallada de las barreras reproductivas intraflorales para tratar de explicar la capacidad de auto-polinización es infrecuente, solo en 36.6 % de las 161 observaciones se documentó la presencia o ausencia de barreras reproductivas temporales (dicogamia) y espaciales (hercogamia). En cuanto al tipo de dicogamia predominó la protandria (26 especies y de éstas tan solo para tres especies se señala que es protandria incompleta), seguida por especies adicogámicas (15 especies) y solo para una especie se describe protoginia. En cuanto a barreras espaciales se documentaron 17 especies con hercogamia (solo en nueve especies se señala que es hercogamia por aproximación) y diez no la presentaron. La presencia de barreras reproductivas (dicogamia o hercogamia) fue informada en 10 especies determinadas como auto-compatibles ( $SCI \geq 1$ ).

#### Frecuencia de Agamospermia en Bromeliaceae

Para la prueba de agamospermia se encontró valores del índice entre  $AGI = 0$  y  $AGI = 1.1$  (Fig. 10). La evaluación de la agamospermia se contempló en 69 registros incluidos en la base de datos, de los cuales un 12 % de estos registros se consideraron como especies con un grado de agamospermia importante ( $AGI \geq 0.5$ ). En general, la incidencia de agamospermia en la familia es baja, solo el 4.3

% de las especies donde se analizó presentaron agamospermia completa ( $AGI \geq 1$ ) y estuvo ausente en la mayoría (69.6 %). A nivel de subfamilia, Pitcairnioideae y Bromelioideae presentaron un mayor porcentaje de especies con agamospermia completa ( $AGI \geq 1$ , 3.8 % y 3.7 %, respectivamente). En Tillandsioideae se informó únicamente a *Tillandsia heterophylla* (Aguilar-Rodríguez, Tschapka, et al., 2019) con agamospermia completa (Fig. 11). Con respecto a la familia Brocchinioideae, para su única observación (*Brocchinia reducta*) se encontró un valor intermedio de ( $AGI = 0.5$ ) y *Lindmania guianensis* (Lindmanioideae) se considera como no agamospérmica ( $AGI = 0$ ).

Pitcairnioideae es la subfamilia con la distribución de valores más altos de agamospermia con un valor promedio de  $AGI = 0.26$  ( $H = 17.42$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 12). En cuanto a la distribución de valores del índice AGI en relación con el síndrome de polinización ( $H = 2.8$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.24$ ) o hábito de crecimiento ( $H = 1.82$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.4$ ) no se encontraron diferencias significativas entre las categorías respectivas.

## Discusión

### Aspectos generales de la información recopilada

Bromeliaceae está entre las familias de angiospermas cuyos sistemas reproductivos se han estudiado en mayor grado en las últimas tres décadas, precedido de grupos como Orchidaceae y Fabaceae (Raduski et al., 2012) que corresponden a las familias más diversas y de amplia distribución geográfica (Stevens, 2017). No obstante, los datos aquí recopilados de 136 especies corresponden principalmente a tres de las ocho subfamilias que conforman Bromeliaceae según la nueva clasificación para la familia (Givnish et al., 2011) y al 3.8 % de la diversidad total que se estima en 3679 especies (Gouda & Butcher, 2021).

El estudio de los sistemas reproductivos se ha concentrado en géneros particulares, por ejemplo, *Vriesea* y *Tillandsia* que son los más diversos en la subfamilia Tillandsioideae (Gouda & Boutcher, 2020). Esto podría estar sesgando el patrón observado a nivel de la subfamilia Tillandsioideae que cuenta con otros siete géneros. Al contrario, en la subfamilia Bromelioideae los

estudios de los sistemas reproductivos son más representativos porque abarcan una mayor diversidad de géneros (37%).

La mayoría de los estudios de biología reproductiva incluidos en esta revisión se concentran a lo largo de la costa Atlántica de Brasil, que corresponde a un sitio de alta diversidad para la subfamilia Bromelioideae, y en donde géneros como *Aechmea* (Bromelioideae) y *Vriesea* (Tillandsioideae) son particularmente muy diversos (Smith & Downs, 1977; Givnish et al., 2014; Zizka et al., 2019). Sin embargo, en otros puntos geográficos de diversificación de la familia en Suramérica como la Cordillera de los Andes, tanto al norte por la diversificación de varios géneros de Tillandsioideae y Pitcairnioideae y más hacia el sur por la subfamilia Puyoideae; así como el Escudo de Guayana donde se encuentran especies de las subfamilias más ancestrales (Brocchinoideae, Lindmanioideae y Navioideae) (Givnish et al., 2014; Zizka et al., 2019) corresponden a sitios con ausencia de conocimiento sobre los sistemas reproductivos de bromelias.

#### Tendencia de los sistemas reproductivos sexuales en Bromeliaceae

La tendencia general observada en los sistemas reproductivos de Bromeliaceae es hacia el desarrollo de la auto-compatibilidad, esto si consideramos los valores de SCI > 0.50 como altamente auto-compatibles. Raduski y colaboradores (2012) informan patrones similares en familias diversas en especies, como Orchidaceae, Fabaceae y Ericaceae. Matallana y colaboradores (2010) sugirieron un patrón similar para Bromeliaceae, sin embargo, cuando se consideraron las subfamilias por separado no se observó una tendencia heterogénea, con Bromelioideae menos auto-compatibles que Tillandsioideae y Pitcairnioideae. El mismo patrón de variación se presentó entre géneros pertenecientes a la misma subfamilia, por ejemplo, *Vriesea* con respecto a *Tillandsia* (Tillandsioideae). Lo anterior demuestra que no necesariamente existe un conservadurismo filogenético en la expresión del sistema de compatibilidad a nivel de subfamilias y que otros factores posiblemente ecológicos como los síndromes de polinización podrían determinar su condición.

Las bromelias polinizadas por murciélagos tienden a expresar mayor auto-compatibilidad. La quiropterofilia es característica de los géneros tillandsioideos *Werauhia* (Grant, 1995) y *Vriesea* (sección *Xiphion*) (Utley, 1983) y es un sistema de polinización considerado especializado y que

promueve el exo-cruzamiento, debido a que los murciélagos transportan grandes cantidades de polen y recorren largas distancias en una noche de forrajeo (Fleming et al., 2009; Rosas-Guerrero et al., 2014). Al parecer los síndromes de polinización especializados están asociados con la auto-compatibilidad (Fenster & Martén-Rodríguez, 2007). Las plantas quiropterofilicas pueden estar más expuestas a sufrir de limitación de polinizadores debido a que los murciélagos nectarívoros (clado Glossophaginae) son un grupo poco diverso (Fleming et al., 2009) y menos adaptables a diferentes condiciones climáticas y ecológicas que otros grupos de polinizadores (Bawa et al., 1985; Givnish et al., 2014; Cheptou, 2019; Frick et al., 2020). Aspectos de la biología floral de las plantas, como la longevidad restringida y comportamiento nocturno de las flores quiropterofilicas limita el tipo de polinizadores (Faegri & van der Pijl, 1979) a diferencia de otros grupos de bromelias donde predomina la polinización por colibríes y que es frecuente observar polinizadores secundarios, principalmente abejas, lo cual podría reducir la limitación por polinizadores (Schmid et al., 2010; Aguilar-Rodríguez et al., 2015; Queiroz et al., 2016; Gomes et al., 2020).

Los datos recopilados no sugieren una asociación entre el desarrollo de auto-compatibilidad y la capacidad de autogamia con respecto a los hábitos de crecimiento de las bromelias. Estos resultados no apoyan lo propuesto anteriormente por Gentry & Dodson (1987) quienes sugirieron que la auto-compatibilidad y autogamia eran más frecuente en plantas herbáceas y epífitas. Bush & Beach (1995) mencionan que el desarrollo de mecanismos de auto-fertilización en plantas epífitas podría estar relacionado al menor despliegue floral y distribución hiper-dispersa dentro del bosque comparado con otras formas de vida y que reduce la probabilidad de ser visitada por polinizadores y estar más expuestas a sufrir de limitación de polen (Ackerman, 1986; Mondragón et al., 2015).

La transición hacia la auto-compatibilidad parece estar asociada a la capacidad de auto-polinizarse en Bromeliaceae y a la potencial condición autogámica de varias especies, aunque con frecuencia no se describe en detalle la forma como opera la deposición de polen propio a nivel intra-floral. En especies autogámicas es importante conocer el modo en que ocurre la auto-fertilización (previa, simultánea o demorada, sensu Lloyd & Schoen (1992)), para determinar el posible papel evolutivo o ecológico de este componente del sistema reproductivo, ya sea como mecanismo de aislamiento genético entre especies o de aseguramiento reproductivo (Jain, 1976; Schoen & Lloyd, 1992; Eckert et al., 2006). Por otro lado, la documentación detallada de barreras reproductivas florales

no siempre forma parte de los estudios de la biología reproductiva en la familia Bromeliaceae. Los pocos estudios que reportan dicogamia hacen referencia a protandria, sin embargo, Gardner (1982) en su estudio taxonómico del género *Tillandsia* reportó protoginia como predominante en ese grupo. Los datos recopilados en esta revisión no son suficientes para verificar esa tendencia debido a que no se examinó esta condición en los estudios disponibles de dicho género. La hercogamia es otra barrera reproductiva poco documentada en los estudios del sistema reproductivo de bromelias y en los pocos casos en que se reporta no se define como ocurre la separación de las estructuras reproductivas (p.ej. hercogamia de aproximación o inversa).

La agamosperma no es un componente de los sistemas reproductivos que se incluya de forma rutinaria en los estudios de bromelias, a pesar de que su presencia puede interferir en la interpretación de los resultados de polinizaciones controladas y, por tanto, del sistema reproductivo. En los estudios donde se incluyó su evaluación sugieren que es un fenómeno poco frecuente (13%) en la familia. Para cuatro especies en las que la agamosperma fue importante ( $AGI \geq 0.7$ ), tales como: *Aechmea bracteata* (Pool-Chalé et al., 2018), *Encholirium horridum* (Hmeljevski et al., 2017), *Tillandsia heterophylla* (Aguilar-Rodríguez et al., 2015) y *Werauhia sintenisii* (Lasso & Ackerman, 2004) se registraron similarmente valores altos del *Índice de Auto-Compatibilidad* cuya interpretación debe ser cautelosa. La apomixis podría ser confundida con la partenocarpia o producción de frutos sin semillas (Zangerl et al., 1991), que aunque infrecuente se ha documentado hasta el momento en especies del género *Aechmea* en la subfamilia Bromelioideae, como por ejemplo en *A. lindenii* (Lenzi et al., 2006), *A. hieronymi* (Godoy et al., 2018) y en la especie dioica *A. mariae-reginae* (Cascante-Marín, Trejos, Madrigal, et al., 2019) y que se debería contemplar en estudios futuros.

La evolución y mantenimiento de la auto-compatibilidad y auto-fertilización en las angiospermas se ha interpretado a partir de varias hipótesis como: “selección automática”, “competencia por polinizadores” y “aislamiento reproductivo” (Jain, 1976). No obstante, la explicación mayormente invocada es la de “aseguramiento reproductivo” propuesta por Darwin (1878), que implica la presencia de limitación de polen y la capacidad de autopolinización automática una vez que ha pasado la oportunidad para que se dé la polinización exo-cruzada (Schoen & Lloyd, 1992; Eckert et al., 2006). Para Bromeliaceae concretamente Wendt et al., (2002) y Matallana et al. (2010) propusieron que la auto-compatibilidad y auto-fertilización han surgido como un mecanismo

de aislamiento reproductivo para mantener la integridad genética de las especies cuando coexisten con especies emparentadas, sin embargo, no hay estudios detallados o experimentales que lo demuestren.

### Aspectos metodológicos

La ausencia de los tratamientos controlados de auto- o exo-polinizaciones de los registros excluidos, se debe en general, a que las flores de algunas especies son de tamaño reducido, donde la posición de las estructuras reproductivas y la morfología del perianto impiden su manipulación. Sin embargo, varios de esos estudios descartados informan resultados de auto-polinizaciones espontáneas que demuestran auto-compatibilidad y autogamia. Como por ejemplo, en *Lyndmania smithii* (Siquiera Filho, 2003); *Guzmania monostachia* (Cascante-Marín et al., 2006) y varias especies de *Tillandsia* (Cascante-Marín et al., 2006; Bianchi & Vesprini, 2014; Orozco-Ibarrola et al., 2015).

En la cuantificación de los índices (SCI, AFI y AGI) fue posible observar valores  $> 1$ , los cuales a veces pueden ser interpretados como errores experimentales (Lloyd & Schoen, 1992), debido a que significa que el éxito reproductivo fue mayor en auto-polinizaciones con respecto a las polinizaciones cruzadas manuales en el caso del SCI. Estos índices tienen un límite teórico máximo de uno que indica auto-compatibilidad, autogamia y agamosperma completa, sin embargo, estos valores que sobrepasan el límite máximo también podrían ser el resultado del efecto por “depresión exogámica” (Lynch, 1991; Tallmon et al., 2004) que puede ocurrir por la adaptación local (Barmentlo et al., 2018) ante condiciones de aislamiento espacial de las poblaciones y al propio aislamiento por limitación de polen (Barrios & Ramírez, 2008; Schleuning et al., 2011; Ramírez & Nassar, 2017). Cabe destacar que en dos estudios (Gomes et al., 2020; Orozco-Ibarrola et al., 2015), las polinizaciones controladas (auto y exo) no produjeron frutos, lo cual sugiere un posible error experimental de manipulación. Estos estudios se excluyeron de las estimaciones de los índices del sistema reproductivo.

Estimar la magnitud o intensidad de los sistemas reproductivos de las bromelias también podría verse afectada por sesgos experimentales relacionados con el muestreo. Los estudios recopilados en esta revisión provienen de poblaciones individuales, mientras que estudios que abarcan



varias poblaciones intra-específicas son infrecuentes en angiospermas en general (Eckert et al., 2006; Raduski et al., 2012). Los datos disponibles de varias poblaciones de una misma especie sugieren que la expresión del sistema reproductivo de bromelias podría ser heterogénea y representar el resultado de presiones selectivas locales sobre los sistemas reproductivos, tal como se ha encontrado para otras especies de plantas (Busch, 2005; Eckert et al., 2006; Ortiz et al., 2006; Miller & Kostyun, 2011). Por lo anterior, los valores del SCI estimados se podrían considerar como característicos de una población particular y no necesariamente representativas de las especies. Lo anterior, no excluye posibles identificaciones incorrectas o errores de muestreo. Ferrer et al. (2009) y Theiss et al. (2010) han demostrado en otros grupos de angiospermas la labilidad en la expresión de los sistemas de compatibilidad entre individuos de una misma población, lo cual sugiere que la determinación del sistema de auto-compatibilidad está sujeto a errores de muestreo. Es sorprendente que en una proporción importante de estudios recopilados en esta revisión (28 %) no se indica con claridad o se omite la cantidad de plantas utilizadas. Por el contrario, el uso común de muestras grandes a nivel de flores (> 20), especialmente en los tratamientos auto-polinización automática o natural (control) y debido a la facilidad o bajo esfuerzo de su aplicación, pareciese en algunos casos que tratan de compensar un número bajo de individuos analizados (Fig. S1 y S2).

### **Conclusiones y recomendaciones de estudios futuros**

En el estudio de los sistemas reproductivos sexuales de las plantas angiospermas, la contribución de los estudios en bromelias ha sido particularmente importante. El panorama actual es que la familia Bromeliaceae se caracteriza por presentar una tendencia general hacia la auto-compatibilidad, idea que se ha propuesto previamente (Matallana et al., 2010). Sin embargo, la representatividad de los estudios es relativamente baja (3.8% de las especies) y existe un sesgo hacia las tres subfamilias más diversas. Es importante que los estudios futuros contemplen especies pertenecientes a las otras subfamilias (Brocchinioideae, Lindmanioideae, Navioideae y Puyoideae) para tener un panorama más completo de los sistemas reproductivo de la familia. De igual forma, el estudio de géneros característicos por su abundancia y diversidad como: *Guzmania*, *Dyckia*, *Neoregelia*, *Pitcairnia* y *Puya* mejorarán el panorama a nivel de subfamilias.

La evolución de la auto-fertilización en plantas podría estar relacionado a una estrategia de “aseguramiento reproductivo” o de “aislamiento reproductivo” (Jain, 1976). Según la información recopilada, no se encontró estudio alguno que directamente evaluará la función de la auto-fertilización en la familia Bromeliaceae, particularmente en las subfamilias más autógamas Tillandsioideae y Pitcairnioideae. Por lo anterior, no es posible explicar cuál es la ventaja que ofrece la auto-fertilización para que se mantenga esta tendencia en la familia Bromeliaceae. Los estudios futuros al respecto deben contemplar la aplicación de manipulaciones florales para medir el éxito reproductivo de flores intactas y emasculadas en condiciones naturales que permitan estimar la contribución de la auto-fertilización al aseguramiento reproductivo (Schoen & Lloyd, 1992; Eckert et al., 2006). Es importante también que estos estudios provean una descripción detallada de los mecanismos florales que permiten la auto-fertilización, ya que su conocimiento es de gran relevancia para determinar el tipo de autopolinización autónoma y comprender su evolución en la familia (Lloyd & Schoen, 1992; Goodwillie et al., 2005).

La variación intra- e interpoblacional en los sistemas reproductivos sexuales no se ha estudiado de forma sistemática en las bromelias, aunque se reconoce su existencia en otros grupos de angiospermas (Eckert et al., 2006; Ferrer et al., 2009; Theiss et al., 2010). Por lo tanto, la inclusión de varias poblaciones en los estudios es de gran trascendencia, ya que pareciera ser que los valores estimados de los índices frecuentemente reportados son característicos de las poblaciones y no de las especies, probablemente como consecuencia de las interacciones con factores ecológicos locales que influyen en la transición de los sistemas reproductivos sexuales (Eckert et al., 2006). No parece existir un consenso en el diseño experimental para evaluar los sistemas reproductivos, ya que no siempre se evalúan todos los componentes de dichos sistemas ni se utilizan tamaños muestras homogéneos en los tratamientos de polinización. Es conveniente estandarizar los tamaños muestrales y que los estudios utilicen una cantidad representativa de plantas y flores para evitar los sesgos en las estimaciones de los índices utilizados para describir el sistema reproductivo (Shivanna & Tandon, 2014). Además, es necesario que los estudios incluyan todos los tratamientos de polinizaciones controladas que permiten estimar cada uno de los componentes para una interpretación adecuada de los sistemas reproductivos de las plantas.

Actualmente se conoce que muchas especies de bromelias se encuentran amenazadas (Zizka et al., 2019), entre ellas algunas especies con sistemas reproductivos auto-incompatibles y especies díicas y monoicas que son mayormente susceptibles a la limitación de polen y que podrían requerir medidas de conservación especiales. No obstante, para las especies que muestran auto-compatibilidad se esperaría una capacidad mayor de resiliencia a los cambios ambientales que afecten las interacciones de polinización. Esta es una hipótesis amena de evaluar y de allí la importancia en términos de conservación de continuar con el estudio de los sistemas reproductivos en bromelias. Por lo anterior, es de gran importancia conocer el sistema reproductivo sexual de las poblaciones para formular estrategias de conservación de hábitat que permitan el mantenimiento y protección de las especies.

## Literatura citada

- Ackerman, J. (1986). Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana*, 9(1), 52–60.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., García-Franco, J., & Macswiney G. (2015). From dusk till dawn: Nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology*, 18(1), 37–45.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., & Tschapka, M. (2019). Bat pollination in Bromeliaceae. *Plant Ecology & Diversity*, 12(1), 1–19.
- Aguilar-Rodríguez, P., Tschapka, M., García-Franco, J., Krömer, T., & MacSwiney, M. C. (2019). Bromeliads going batty: pollinator partitioning among sympatric chiropterophilous Bromeliaceae. *AoB Plants*, 11(2), 1–19.
- Alboukadel, K. (2019). *ggpubr: “ggplot2” Based publication ready plots*. (R package version 0.2.1). <https://cran.r-project.org/package=ggpubr>
- Anderson, E. (1953). Introgressive hybridization. *Biological Reviews*, 28(3), 280–307. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1953.tb01379.x>
- Anderson, J. T., Inouye, D. W., McKinney, A. M., Colautti, R. I., & Mitchell-Olds, T. (2012). Phenotypic plasticity and adaptive evolution contribute to advancing flowering phenology in response to climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1743), 3843–3852. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1051>
- Araujo, A. C., Fischer, E. A., & Sazima, M. (1994). Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 17(2), 113–118.
- Arida, B., Scopece, G., Machado, R., Moraes, A., Forni-Martins, E., & Pinheiro, F. (2021). Reproductive barriers and fertility of two neotropical orchid species and their natural hybrid. *Evolutionary Ecology*, 35, 41–64. <https://doi.org/10.1007/s10682-020-10095-5>
- Arnold, M. (1997). *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press.
- Ashman, T., Knight, T., Steets, J., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston,

- M., Mazer, S., Mitchell, R., Morgan, M., & Wilson, W. (2004). Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and Evolutionary Causes and Consequences. *Ecology*, 85(9), 2408–2421.
- Ashton, P. S., Givnish, T. J., & Appanah, S. (1988). Staggered Flowering in the Dipterocarpaceae: New Insights Into Floral Induction and the Evolution of Mast Fruiting in the Aseasonal Tropics. *The American Naturalist*, 132(1), 44–66.
- Augspurger, C. (1983). Phenology, Flowering Synchrony, and Fruit Set of Six Neotropical Shrubs. *Biotropica*, 15(4), 257–267.
- Baack, E., Melo, M. C., Rieseberg, L. H., & Ortiz-Barrientos, D. (2015). The origins of reproductive isolation in plants. *The New Phytologist*, 207(4), 968–984. <https://doi.org/10.2307/newphytologist.207.4.968>
- Baker, H. G. (1955). Self-compatibility and establishment after “Long-Distance” dispersal. *Evolution*, 9, 347–349.
- Baker, H. G. (1959). Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 24(1), 177–191. <https://doi.org/10.1101/SQB.1959.024.01.019>
- Barfuss, M. H. J., Samuel, R., Till, W., & Stuessy, T. F. (2005). Phylogenetic relationships in subfamily tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany*, 92(2), 337–351. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.337>
- Barfuss, M. H. J., Till, W., Leme, E. M. C., Pinzón, J. P., Manzanares, J. M., Halbritter, H., Samuel, R., & Brown, G. K. (2016). Taxonomic revision of bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. *Phytotaxa*, 279(1), 1–97. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.279.1.1>
- Barmantlo, S. H., Meirmans, P. G., Luijten, S. H., Triest, L., & Oostermeijer, J. G. B. (2018). Outbreeding depression and breeding system evolution in small, remnant populations of *Primula vulgaris*: consequences for genetic rescue. *Conservation Genetics*, 19(3), 545–554.
- Barrett, S. C. H. (2003). Mating strategies in flowering plants : the outcrossing – selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions Royal Society London B Biology Science*, 358(1434),

991–1004.

- Barrett, S. C. H. (2010). Darwin 's legacy : the forms, function and sexual diversity of flowers Darwin 's legacy : the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical Transactions Royal Society London Biology Science*, 365(1), 351–368.
- Barrett, S. C. H. (2013). The evolution of plant reproductive systems: How often are transitions irreversible? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1765), 1–9.
- Barrett, S. C. H. (2014). Evolution of mating systems : outcrossing versus selfing. In J. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 356–362). Princeton University Press.
- Barrios, Y., & Ramírez, N. (2008). Depresión por exogamia y biología reproductiva de *Nymphaea ampla* (Salisb.) DC. (Nymphaeaceae) DC. (Nymphaeaceae). *Acta Botánica Venezolánica*, 31(2), 539–555.
- Bawa, K. S. (1974). Breeding Systems of Tree Species of a Lowland Tropical Community. *Evolution*, 28(1), 85.
- Bawa, K. S., Bullock, S. H., Perry, D. R., Coville, R. E., & Grayum, M. H. (1985). Reproductive Biology of Tropical Lowland Rain Forest Trees. II. Pollination Systems. *American Journal of Botany*, 72(3), 346–356.
- Becerra, J., & Lloyd, D. (1992). Competition-dependent abscission of self-pollinated flowers of *Phormium tenax* (Agavaceae): a second action of self-incompatibility at the whole flower leve. *Evolution*, 46(2), 458–469.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an adaptative radiation*. Cambridge University Press.
- Benzing, D. (2008). *Vascular epiphytes : general biology and related biota*. Cambridge University Press.
- Bianchi, M., Gibbs, P., Prado, D., & Vespisrini, J. L. (2000). Studies on the breeding systems of understorey species of a Chaco woodland in NE Argentina. *Flora*, 195, 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30992-1](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30992-1)
- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1986). Chromosomes of the Bromeliaceae. *Selbyana*, 9(1), 88–93.

- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1989). Stigma Types in Bromeliaceae-A Systematic Survey. *Systematic Botany*, *14*(1), 110–132.
- Brys, R., Geens, B., Beeckman, T., & Jacquemyn, H. (2013). Differences in dichogamy and herkogamy contribute to higher selfing in contrasting environments in the annual *Blackstonia perfoliata* (Gentianaceae). *Annals of Botany*, *111*(1), 651–661. <https://doi.org/10.1093/aob/mct031>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2011). Variation in the functioning of autonomous self-pollination, pollinator services and floral traits in three *Centaurium* species. *Annals of Botany*, *107*(1), 917–925. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr032>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2012). Effects of human-mediated pollinator improv on floral traits and mating patterns in a shor an experimental approach. *Functional Ecology*, *26*(1), 189–197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01923.x>
- Brys, R., van Cauwenberghe, J., & Jacquemyn, H. (2016). The importance of autonomous selfing in preventing hybridization in three closely related plant species. *Journal of Ecology*, *104*(2), 601–610. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12524>
- BSI. (2020, February 20). *Taxonomy*. <https://www.bsi.org/new/taxonomy/>
- Busch, J. W. (2005). The Evolution of Self-Compatibility in Geographically Peripheral Populations of *Leavenworthia alabamica* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, *92*(9), 1503–1512.
- Busch, J. W., & Delph, L. F. (2012). The relative importance of reproductive assurance and automatic selection as hypotheses for the evolution of self-fertilization. *Annals of Botany*, *109*(3), 553–562. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr219>
- Bush, S. P., & Beach, J. H. (1995). Breeding systems of epiphytes in a tropical montane wet forest. *Marie Selby Botanical Gardens Inc.*, *16*(2), 155–158.
- Buzato, S., Sazima, M., & Sazima, I. (2000). Hummingbird-Pollinated Floras at Three Atlantic Forest Sites. *Biotropica*, *32*(4b), 824–841.
- Cáceres, D. A., Schulte, K., Schmidt, M., & Zizka, G. (2013). Diversity and levels of endemism of the Bromeliaceae of Costa Rica – an updated checklist. *Phytokeys*, *29*, 17–61.

- Campbell, D., & Aldridge, G. (2006). Floral biology of hybrid zones. In L. Harder & S. Barret (Eds.), *Ecology and Evolution of flowers* (pp. 326–353). Oxford University Press.
- Campbell, D., Waser, N. M., & Pederson, G. T. (2002). Predicting patterns of mating and potential hybridization from pollinator behavior. *The American Naturalist*, *159*(5), 438–450.
- Campbell, M., McKenzie, J. E., Sowden, A., Katikireddi, S. V., Brennan, S. E., Ellis, S., Hartmann-Boyce, J., Ryan, R., Shepperd, S., Thomas, J., Welch, V., & Thomson, H. (2020). Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: Reporting guideline. *BMJ*, *368*, 1–5.
- Cascante-Marín, A., de Jong, M., Borg, E. D., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2006). Reproductive Strategies and Colonizing Ability of Two Sympatric Epiphytic Bromeliads in a Tropical Premontane Area. *International Journal of Plant Sciences*, *167*(6), 1187–1195.
- Cascante-Marín, A., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2005). Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Premontane tropical forest. *Plant Biology*, *7*, 203–209. <https://doi.org/10.1055/s-2005-837584>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Alvarado, R. (2017). Association between rainfall seasonality and the flowering of epiphytic plants in a Neotropical montane forest. *Biotropica*, *49*(6), 912–920. <https://doi.org/10.1111/btp.12478>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., Madrigal, R., & Fuchs, E. J. (2019). Genetic diversity and reproductive biology of the dioecious and epiphytic bromeliad *Aechmea mariae-reginae* (Bromeliaceae) in Costa Rica: Implications for its conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *192*(4), 773–786.
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Morales, J. (2019). First description of the nocturnal flowers of the little-known *Werauhia haberi* (Tillandsioideae) and notes about its natural history. *Journal of the Bromeliad Society International*, *69*(1), 1–9.
- Chaparro, H. (2005). Biología reproductiva de la bromelia terrestre *Puya trianae* en el Parque Chingaza. In *Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la Cordillera Oriental de Colombia*. (pp. 273–286). Universidad Nacional de Colombia.
- Charlesworth, D., & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary



- consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 18, 18(1), 237–268.
- Cheptou, P. O. (2019). Does the evolution of self-fertilization rescue populations or increase the risk of extinction? *Annals of Botany*, 123(2), 337–345.
- Christie, K., & Strauss, S. Y. (2018). Along the speciation continuum: Quantifying intrinsic and extrinsic isolating barriers across five million years of evolutionary divergence in California jewelflowers. *Evolution*, 72(5), 1063–1079. <https://doi.org/10.1111/evo.13477>
- Covas, G., & Schnack, B. (1945). El valor taxonómico de la relación: " Longitud del pistilo : Volumen del grano de polen ". *Darwiana*, 7(1), 80–90.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1989). Patterns of Speciation in *Drosophila*. *Evolution*, 43(2), 362–381.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1998). Evolution of Biological Diversity: From Population Differentiation to Speculation. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 353(1366), 287–305.
- Cruden, R. (2009). Pollen grain size, stigma depth, and style length: the relationships revisited. *Plant Systematic Evolution*, 278(1), 223–238. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0142-8>
- Cruden, R., & Lyon, D. (1989). Facultative xenogamy: examination of a mixed mating system. In J. Bock, Y. Linhasrt, G. Stebbins, & C. Turner (Eds.), *The evolutionary ecology of plants*. CRC Press.
- Cruden, R., & Miller-Ward, S. (1981). Pollen-Ovule Ratio, Pollen Size, And The Ratio Of Stigmatic Area To The Pollen-Bearing Area Of The Pollinator: An Hypothesis. *Evolution*, 35(5), 964–974. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1981.tb04962.x>
- Cunningham, S. A. (2000). Depressed Pollination in Habitat Fragments Causes Low Fruit Set. *Proceedings: Biological Sciences*, 267(1448), 1149–1152.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life: Vol. 1859*. John Murray,.
- Darwin, C. (1876). *The Effects of Cross and Self-fertilisation in the Vegetable kingdom (Second)*. John Murray, Albemarle Street.
- Darwin, C. (1877). *The different forms of flowers of plants of the same species*. John Murray,

Albemarle Street.

- De Sousa, L., Wendt, T., Brown, G., Tuthill, D., & Evans, T. (2007). Monophyly and Phylogenetic Relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) Based on Morphology and Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*, 32(2), 264–270.
- Delpino, F. (1867). Sull'opera, la distribuzione dei sessi nelle piante e la legge che osta alla perennità della fecondazione consanguinea. *Atti Della Societa Italiana Di Scienze Naturali*, 10(1), 272–303.
- Dressler, R. (1990). *The Orchids: natural history and classification*. Harvard University Press.
- Durán, F. J. (2013). Murciélagos (Chiroptera) y ratones silvestres (Rodentia) de la zona Protectora Cerros de La Carpintera, Costa Rica. *Brenesia*, 79(1), 53–57.
- Eckert, C. G., & Herlihy, C. R. (2004). Using a cost-benefit approach to understand the evolution of self-fertilization in plants: The perplexing case of *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). *Plant Species Biology*, 19(3), 159–173. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2004.00112.x>
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Dart, S. (2006). Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. In L. Harder & S. Barrett (Eds.), *Ecology and Evolution of Flowers* (First, pp. 183–203). Oxford University Press.
- Egli, D. B., Hamman, B., & Rucker, M. (2010). Seed Vigor and Uniformity of Seedling Emergence in Soybean. *Seed Technology*, 32(2), 87–95.
- Elzinga, J. A., Atlan, A., Biere, A., Gigord, L., Weis, A. E., & Bernasconi, G. (2007). Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(8), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.05.006>
- Erdtman, G., & Praglowski, J. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). A note of pollen morphology. *Flora Neotropica*, 14(1), 28–39.
- Faegri, K., & van der Pijl, L. (1979). *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon.
- Fenster, C. B., & Martén-Rodríguez, S. (2007). Reproductive assurance and the evolution of pollination specialization. *International Journal of Plant Sciences*, 168(2), 215–228.

- Ferrer, M. M., Good-Avila, S. V., Montaña, C., Domínguez, C. A., & Eguiarte, L. E. (2009). Effect of variation in self-incompatibility on pollen limitation and inbreeding depression in *Flourensia cernua* (Asteraceae) scrubs of contrasting density. *Annals of Botany*, *103*(7), 1077–1089.
- Ferrer, M. M., & Good, S. V. (2012). Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. *Annals of Botany*, *110*(3), 535–553.
- Fleming, T., Geiselman, C., & Kress, W. (2009). The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, *104*(1), 1017–1043.
- Fleming, T., Nuñez, R., Da Silveira, L., & Sternberg, L. (1993). Seasonal Changes in the Diets of Migrant and Non-Migrant Nectarivorous Bats as Revealed by Carbon Stable Isotope Analysis. *Oecologia*, *94*(1), 72–75.
- Frankie, G., Baker, H., & Opler, P. (1974). Tropical Plant Phenology: Applications for studies in community ecology. In H. Lieth (Ed.), *Phenology and Seasonality Modeling. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 8. (pp. 287–298). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8_24)
- Frick, W. F., Kingston, T., & Flanders, J. (2020). A review of the major threats and challenges to global bat conservation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1469*(1), 5–25.
- Fryxell, P. A. (1957). Mode of Reproduction of Higher Plants. *The Botanical Review*, 135–233.
- Gardner, C. (1982). *A systematic study of tillandsia subgenus tillandsia*. Universidad Texas A & M.
- Gardner, C. (1984). Natural hybridization in “Tillandsia” subgenus “Tillandsia.” *Selbyana*, *7*(2), 380–393.
- Gentry, A., & Dodson, C. (1987). Diversity and Biogeography of Neotropical Vascular Epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *74*(2), 205–233.
- Gitaí, J., Horres, R., & Benko-Iseppon, A. M. (2005). Chromosomal features and evolution of Bromeliaceae. *Plant Systematics and Evolution*, *253*(1–4), 65–80. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0306-8>
- Givnish, T. J. (2010). Ecology of plant speciation. *Taxon*, *59*(5), 1326–1366.

- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Andrew, J., Smith, C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2014). Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *71*(1), 55–78.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Smith, J. A. C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, *98*(5), 872–895.
- Givnish, T. J., Millam, K. C., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2007). Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography of Bromeliaceae Inferred from *ndhF* Sequence Data. *Aliso*, *23*(1).
- Godoy, D. R. F. M., Lenzi, M., Ferreira, B. H. D. S., Da Silva, L. V., Zanella, C. M., & Paggi, G. M. (2018). High genetic diversity and moderate genetic structure in the self-incompatible, clonal *Bromelia hieronymi* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *187*(4), 672–688.
- Goetze, M., Zanella, C. M., Palma-Silva, C., Büttow, M. V., & Bered, F. (2017). Incomplete lineage sorting and hybridization in the evolutionary history of closely related, endemic yellow-flowered *Aechmea* species of subgenus *Orgiesia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, *104*(7), 1073–1087.
- Gomes, A. C., Ferreira, B. H. S., Souza, C. S., Arakaki, L. M. M., Aoki, C., Paggi, G. M., & Sigris, M. R. (2020). Adaptive response of extreme epiphyte *Tillandsia* species (Bromeliaceae) is demonstrated by different sexual reproduction strategies in the Brazilian Chaco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *192*, 840–854.
- Gomulkiewicz, R., & Holt, R. D. (1995). When does Evolution by Natural Selection Prevent Extinction? *Evolution*, *49*(1), 201–207.
- González, A. V., & Pérez, F. (2010). Pollen Limitation and Reproductive Assurance in the Flora of the Coastal Atacama Desert. *International Journal of Plant Sciences*, *171*(6), 607–6014.

<https://doi.org/10.1086/653135>

- Goodwillie, C., Kalisz, S., & Eckert, C. (2005). The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(1), 47–79.
- Goodwillie, C., & Weber, J. (2018). The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany*, 105(4), 641–655. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1045>
- Gouda, E., & Butcher, D. (2021). *A List of Accepted Bromeliaceae Names*. University Botanic Gardens, Utrecht.
- Grant, J. (1995). Bromeliestudien. The resurrection of *Alcantarea* and *Werauhia*, a new genus. *Tropische Und Subtropische Pflazenwelt*, 91, 8–57.
- Grant, V. (1949). Pollination Systems as Isolating Mechanisms in Angiosperms. *Evolution*, 3(1), 82–97.
- Grant, V. (1981). *Plant speciation*. Columbia University Press.
- Grant, V. (1993). Effects of Hybridization and Selection on Floral Isolation. *National Academy of Sciences*, 90(3), 990–993.
- Grant, V. (1994a). Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(1), 3–10.
- Grant, V. (1994b). Mechanical and Ethological Isolation Between *Pedicularis groenlandica* and *P. attollens* (Scrophulariaceae). *Biologisches Zentralblatt*, 113, 43–51.
- Harrison, R. (2014). Species and Speciation. In J. B. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 489–495). Princeton University Press.
- Herlihy, C. R., & Eckert, C. G. (2002). Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. *Nature*, 416(6878), 320–323. <https://doi.org/10.1038/416320a>
- Hmeljevski, K. V., Wolowski, M., Forzza, R. C., & Freitas, L. (2017). High outcrossing rates and short-distance pollination in a species restricted to granitic inselbergs. *Australian Journal of Botany*, 65(4), 315–326.

- Holdridge, L. R. (1966). The life zone system. *Adansonia*, 6(2), 199–203.
- Hopkins, R. (2013). Reinforcement in plants. *New Phytologist*, 197(4), 1095–1103. <https://doi.org/10.1111/nph.12119>
- Hörandl, E., & Hojsgaard, D. (2012). The evolution of apomixis in angiosperms: A reappraisal. *Plant Biosystems*, 146(3), 681–693. <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.716795>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346–363.
- INGCR. (1981). *Hoja cartográfica Istarú 3445. Proyección Lambert*. Instituto Geográfico Nacional. Ministerio de Obras Públicas y Transporte.
- Jabaily, R. S., & Sytsma, K. J. (2013). Historical biogeography and life-history evolution of Andean Puya (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171, 201–224.
- Jackson, D., & White, I. R. (2018). When should meta-analysis avoid making hidden normality assumptions? *Biometrical Journal*, 60(6), 1040–1058.
- Jain, S. K. (1976). The Evolution of Inbreeding in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 7(1), 469–495.
- Jeppson, H., Hofmann, H., & Cook, D. (2021). *ggmosaic: Mosaic Plots in the “ggplot2” Framework. R package version 0.3.3.*
- Jones, N. T., Husband, B. C., & MacDougall, A. S. (2013). Reproductive system of a mixed-mating plant responds to climate perturbation by increased selfing. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1766), 1–6. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1336>
- Jürgens, A., Witt, T., & Gottsberger, G. (2012). Pollen grain size variation in Caryophylloideae: A mixed strategy for pollen deposition along styles with long stigmatic areas? *Plant Systematics and Evolution*, 298(1), 9–24.
- Kaehler, M., Varassin, I., & Goldenberg, R. (2005). Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 28(2), 219–228.

- Kalisz, S., Vogler, D. W., & Hanley, K. M. (2004). Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature*, *430*(1), 884–446.
- Kay, K. (2006). Reproductive Isolation between Two Closely Related Hummingbird-Pollinated Neotropical Gingers. *Evolution*, *60*(3), 538–552.
- Kearns, C., & Inouye, D. (1993). Techniques for pollination biologists. In *Trends in Ecology & Evolution* (Vol. 9, Issue 4). University Press of Colorado. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90195-3](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90195-3)
- Kessler, M., & Krömer, T. (2000). Patterns and Ecological Correlates of Pollination Modes Among Bromeliad Communities of Andean Forests in Bolivia. *Plant Biology*, *2*(6), 659–669.
- Kessler, Michael, Abrahamczyk, S., & Krömer, T. (2020). The role of hummingbirds in the evolution and diversification of Bromeliaceae: unsupported claims and untested hypotheses. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *192*(4), 592–608.
- King, J. (1960). The peroxidase reaction as an indicator of pollen viability. *Stain Technology*, *36*(225227), 109.
- Knight, T., Steets, J., Vamosi, J., Mazer, S., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, J., Mitchell, M., & Ashman, T. (2005). Pollen limitation of plant reproduction: patterns and process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *36*(1), 467–497.
- Krömer, T., Kessler, M., & Herzog, S. (2006). Distribution and Flowering Ecology of Bromeliads along Two Climatically Contrasting Elevational Transects in the Bolivian Andes 1. *Biotropica*, *38*(2), 183–195.
- Krömer, T., Kessler, M., Lohaus, G., & Schmidt-Lebuhn, A. N. (2008). Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biology*, *10*(4), 502–511.
- Lande, R., & Schemske, D. W. (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. *Evolution*, *39*(1), 24–40. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb04077.x>
- Lasso, E., & Ackerman, J. (2004). The flexible breeding system of *Werauhia sintenisii*, a cloud forest bromeliad from Puerto Rico. *Biotropica*, *36*(3), 414–417.

- LaVal, R., & Fitch, H. (1977). Structure, movements and reproduction in three Costa Rican bat communities. *Museum of Natural History of The University of Kansas*, 69(1), 1–28.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Leal, R., Moreira, M., Pinto, A., Ferreira, J., Rodriguez-Girones, M., & Freitas, L. (2020). Temporal changes in the most effective pollinator of a bromeliad pollinated by bees and hummingbirds. *PeerJ*, 8, 1–22.
- Leclerc-Potvin, C., & Ritland, K. (1994). Modes of Self-Fertilization in *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae): A Field Experiment. *American Journal of Botany*, 81(2), 199–205.
- Lenzi, M., Matos, J. Z. de, & Orth, A. I. (2006). Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 20(2), 487–500.
- Levin, D. (1971). The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon*, 20(1), 91–113.
- Levin, D. (1972). Competition for pollinator service: a stimulus for the evolution of autogamy. *Evolution*, 26(4), 668–669.
- Levin, D. (2006). Flowering Phenology in Relation to Adaptive Radiation. *Systematic Botany*, 31(2), 239–246.
- Levin, D., & Anderson, W. (1970). Competition for Pollinators between Simultaneously Flowering Species. *Source: The American Naturalist*, 104(939), 455–467.
- Lewis, D., & Crowe, L. (1958). Unilateral interespecific incompatibility in flowering plants. *Heredity*, 12, 233–256.
- Liang, H., Ren, Z.-X., Tao, Z.-B., Zhao, Y.-H., Bernhardt, P., Li, D.-Z., & Wang, H. (2018). Impact of pre- and post-pollination barriers on pollen transfer and reproductive isolation among three sympatric *Pedicularis* (Orobanchaceae) species. *Plant Biology*, 20(4), 662–673. <https://doi.org/10.1111/plb.12833>
- Liberati, A., Altman, D., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P., Ioannidis, J., Clarke, M., Devereaux,



- P., Kleijnen, J., & Moher, D. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Medicine*, *6*(7), e1000100.
- Liu, H., & Koptur, S. (2003). Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban-wildland interface. *American Journal of Botany*, *90*(8), 1180–1187. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.8.1180>
- Lloyd, D. (1965). Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, *1*(195), 3–134.
- Lloyd, D. (1979). Some Reproductive Factors Affecting the Selection of Self-Fertilization in Plants. *The American Naturalist*, *113*(1), 67–79.
- Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . II . The Selection of Self- Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, *153*(3), 370–380.
- Lloyd, D., & Schoen, D. (1992). Self- and cross-fertilization in plants . I . Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, *153*(3), 358–369.
- Lloyd, D., & Webb, C. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany*, *24*(1), 135–162.
- Lowry, D. B., Modliszewski, J. L., Wright, K. M., Wu, C. A., & Willis, J. H. (2008). Review. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1506), 3009–3021. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0064>
- Lumer, C. (1980). Rodent pollination of *Blakea* ( Melastomataceae) in a Costa Rican cloud forest. *Brittonia*, *32*(4), 512–517.
- Lussu, M., De Agostini, A., Marignani, M., Cogoni, A., & Cortis, P. (2018). *Ophrys annae* and *Ophrys chestermanii*: an impossible love between two orchid sister species. *Nordic Journal of Botany*, *36*(10), 1–8. <https://doi.org/10.1111/njb.01798>
- Lynch, M. (1991). The Genetic Interpretation of Inbreeding Depression and Outbreeding Depression.

*Evolution*, 45(3), 622–629.

- Machado, C. G., & Semir, J. (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.
- Mallick, S. A. (2001). Faultative dichogamy and reproductive assurance in partially protandrous plants. *Oikos*, 95(3), 533–536.
- Marín Gómez, O. (2014). *Ecología de la polinización y mecanismos de coexistencia del ensamble de columnnea (Gesneriaceae) en la reserva natural Ñambí, Nariño-Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Marques, A. R., & Lemos, J. P. (2008). Fenologia reprodutiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 22(2), 417–424.
- Marquis, R. J. (1988). Phenological Variation in the Neotropical Understory Shrub Piper Arielanum: Causes and Consequences. *Ecology*, 69(5), 1552–1565.
- Martén-Rodríguez, S., & Fenster, C. B. (2010). Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesneriaceae: a specialists vs generalist comparison. *Ecology*, 91(1), 155–165.
- Martin, N., & Willis, J. (2007). Ecological Divergence Associated with Mating System Causes Nearly Complete Reproductive Isolation between Sympatric Mimulus Species on JSTOR. *Evolution*, 61(1), 68–82.
- Matallana, G., Eugênio Oliveira, P., da Silva, P., & Wendt, T. (2016). Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(3), 521–531.
- Matallana, G., Godinho, M., Guilherme, F., Belisario, M., Coser, T., & Wendt, T. (2010). Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Systematics and Evolution*, 289(1–2), 57–65.
- McCain, C. M. (2007). Could temperature and water availability drive elevational species richness patterns? A global case study for bats. *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00263.x>

- Mcneilly, T., & Antonovics, J. (1968). Evolution in closely adjacent plant populations iv. Barriers to gene flow. *Heredity*, *23*, 205–218. <https://doi.org/10.1038/hdy.1968.29>
- McWilliams, E. (1974). Chromosome number and evolution. In L. Smith & R. J. Downs (Eds.), *Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica*. (pp. 35–39).
- Miller, J. S., & Kostyun, J. L. (2011). Functional gametophytic self-incompatibility in a peripheral population of *Solanum peruvianum* (Solanaceae). *Heredity*, *107*(1), 30–39. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.151>
- Misiewicz, T., Simmons, T., & Fine, P. (2020). The contribution of multiple barriers to reproduction between edaphically divergent lineages in the Amazonian tree *Protium subserratum* (Burseraceae). *Ecology and Evolution*, *10*(13), 6646–6663. <https://doi.org/10.1002/ece3.6396>
- Moeller, D. (2006). Geographic Structure of Pollinator Communities, Reproductive Assurance, and the Evolution of Self-Pollination. *Ecology*, *87*(6), 1510–1522.
- Moeller, D., & Geber, M. (2005). Ecological context of the evolution of self-pollination in *Clarkia xantiana*: Population size, plant communities and reproductive assurance. *Evolution*, *59*(4), 786–799. <https://doi.org/10.1554/04-656>
- Mondragón, D., Valverde, T., & Hernández-Apolinar, M. (2015). Population ecology of epiphytic angiosperms: A review. *Tropical Ecology*, *56*(1), 1–39.
- Morales, J. F. (2003). Bromeliaceae. In B. Hammel, M. Grayum, C. Herrera, & N. Zamora (Eds.), *Manual de Plantas de Costa Rica Volumen II. Gimnospermas y Monocotiledóneas (Agavaceae-Musaceae)* (Vol. 92, pp. 297–375). Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden. 92: 297-375.
- Moreira-Hernández, J., & Muchhala, N. (2019). Importance of Pollinator-Mediated Interspecific Pollen Transfer for Angiosperm Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *50*(1), 191–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024804>
- Moreno-Valdez, A., Grant, W., & Honeycutt, R. (2000). A simulation model of Mexican long-nosed bat (*Leptonycteris nivalis*) migration. *Ecological Modelling*, *134*(1), 117–127.
- Mosquin, T. (1971). Competition for pollinators as a stimulus for the evolution of flowering time.

- Wiley on Behalf Nordic Society Oikos, 22(3), 398–402.
- Moyle, L. C., Olson, M. S., & Tiffin, P. (2004). Patterns of Reproductive Isolation in Three Angiosperm Genera. *Evolution*, 58(6), 1195–1208.
- Muchhala, N. (2008). Functional Significance of Interspecific Variation in *Burmeistera* Flower Morphology: Evidence from Nectar Bat Captures in Ecuador. *Biotropica*, 40(3), 332–337.
- Muchhala, N., & Potts, M. (2007). Character Displacement among Bat-Pollinated Flowers of the Genus *Burmeistera*: Analysis of Mechanism, Process and Pattern. *Proceedings of The Royal Society Biological Sciences*, 274(1626), 2731–2737. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0670>
- Munguía-Rosas, M. A., & Jácome-Flores, M. E. (2020). Reproductive isolation between wild and domesticated chaya ( *Cnidoscolus aconitifolius* ) in sympatry. *Plant Biology*, 22(5), 932–938. <https://doi.org/10.1111/plb.13140>
- Neal, P., & Anderson, G. (2005). Are “mating systems” “breeding systems” of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? or is it the other way around? *Plant Systematic Evolution*, 250(1), 173–185.
- Neri, J., Wendt, T., & Palma-Silva, C. (2017). Natural hybridization and genetic and morphological variation between two epiphytic bromeliads. *AoB PLANTS*, 10(1), 1–16.
- Newcombe, R. G. (1998). Two-sided confidence intervals for the single proportion: Comparison of seven methods. *Statistics in Medicine*, 17(8), 857–872. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19980430\)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19980430)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E)
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Ornduff, R. (1969). Reproductive Biology in Relation to Systematics. *Taxon*, 18(2), 121–133.
- Orozco-Ibarrola, O. A., Flores-Hernández, P. S., Victoriano-Romero, E., Corona-López, A. M., & Flores-Palacios, A. (2015). Are breeding system and florivory associated with the abundance of *Tillandsia* species (Bromeliaceae)? *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(1), 50–65.
- Ortiz, M., Talavera, S., García-Castaño, J., Tremersberger, K., Stuessy, T., Ballao, F., & Casimiro-Soriguer, R. (2006). Self-Incompatibility and Floral Parameters in *Hypochaeris* sect.

- Hypochaeris (Asteraceae) on JSTOR. *American Journal of Botany*, 93(2), 234–244.
- Ostenfeld, C. H. (1929). Genetic studies in *Polemonium* II. Experiments with crosses of *P. mexicanum* Cerv. and *P. pauciflorum* Wats. *Hereditas*, 12(1), 33–40.
- Parton, E., Vervaeke, I., Deroose, R., & De Proft, M. . (2001). Interspecific and intergeneric fertilization barriers in Bromeliaceae. *Acta Horticulturae*, 552, 43–53.
- Pool-Chalé, M., Ramírez-Morillo, I., Carnevali Fernández-Concha, G., & Hornung-Leoni, C. T. (2018). Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). *Plant Biology*, 20(1), 113–120.
- Primack, R. B. (1985). Patterns of Flowering Phenology in Communities, Populations, Individuals, and Single Flowers. In J. White (Ed.), *The Population Structure of Vegetation. Handbook of Vegetation Science: Vol. Vol.3* (pp. 571–593). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4\\_24](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4_24)
- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, 125, 21–30.
- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/>
- Raduski, A. R., Haney, E. B., & Igi, B. (2012). The expression of self-incompatibility in angiosperms is bimodal. *Evolution*, 66(4), 1275–1283.
- Ramírez-Aguirre, E., Martén-Rodríguez, S., Quesada-Avila, G., Quesada, M., Martínez-Díaz, Y., Oyama, K., & Espinosa-García, F. J. (2019). Reproductive isolation among three sympatric *Achimenes* species: pre- and post-pollination components. *American Journal of Botany*, 106(7), 1021–1031. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1324>
- Ramírez, N., & Brito, Y. (1990). Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan llanos. *American Journal of Botany*, 77(10), 1260–1271.
- Ramírez, N., & Hokche, O. (2019). Outbreeding and inbreeding strategies in herbaceous-shrubby communities in the Venezuelan Gran Sabana Plateau. *AoB PLANTS*, 11(4), 1–15.

- Ramírez, N., & Nassar, J. (2017). Breeding systems in Angiosperms : novel inferences from a new analytical approach. *Plant Systematics and Evolution*, 303(1), 119–137.
- Ramsey, J., Bradshaw, H., & Schemske, D. (2003). Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution*, 57(7), 1520–1534. <https://www-jstor-org.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/stable/pdf/3448754.pdf>
- Rathcke, B., & Lacey, E. (1985). Phenological Patterns of Terrestrial Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 179–214.
- Raven, P. H. (1962). The systematics of *Oenothera*: subgenus *Chylismia*. *University California Public Botanic*, 34, 1–122.
- Restrepo-Chica, M., & Bonilla-Gómez, M. A. (2017). Dinámica de la fenología y visitantes florales de dos bromelias terrestres de un páramo de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(3), 636–645.
- Richards, A. J., Smith, R. A. S., & Bayliss, M. W. (2003). Apomixis in flowering plants: An overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 358(1434), 1085–1093.
- Ríos, L. D., & Cascante-Marín, A. (2017). High selfing capability and low pollinator visitation in the hummingbird-pollinated epiphyte *Pitcairnia heterophylla* ( Bromeliaceae ) at a Costa Rican mountain forest. *Revista Biología Tropical*, 65(June), 735–743.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., & Quesada, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*, 17(3), 388–400.
- Ruan, C., Qin, P., & Teixeira Da Silva, J. (2010). Relationship between reproductive assurance and mixed mating in perennial *Kosteletzkya virginica*. *South African Journal of Botany*, 77(1), 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.08.012>
- Sánchez, J., Duran, F., & Vega, G. (2008). *Diversidad de plantas , mamíferos y mariposas en los Cerros de La Carpintera , Costa Rica* (p. 98). Departamento de Historia Natural. Museo Nacional de Costa Rica. Ministerio de Cultura y Juventud.
- Santana, C. S., & Machado, C. G. (2010). Fenologia de floração e polinização de espécies ornitófilas

- de bromeliáceas em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, BA, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 33(3), 469–477.
- Schiestl, F. P., & Schluter, P. M. (2009). Floral isolation, specialized pollination, and pollinator behavior in orchids. *Annual Review of Entomology*, 54, 425–446. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090603>
- Schleuning, M., Templin, M., Huamán, V., Vardillo, G. P., Becker, T., Durka, W., Fischer, M., & Matthies, D. (2011). Effects of Inbreeding, Outbreeding, and Supplemental Pollen on the Reproduction of a Hummingbird-pollinated Clonal Amazonian Herb. *Biotropica*, 43(2), 183–191.
- Schluter, D. (2014). Speciation and Macroevolution. In Jonathan Losos (Ed.), *Evolution* (pp. 483–599). Princeton University Press.
- Schmid, S., Schmid, V. S., Zillikens, A., Harter-Marques, B., & Steiner, J. (2010). Bimodal pollination system of the bromeliad *Aechmea nudicaulis* involving hummingbirds and bees. *Plant Biology*, 13(1), 41–50.
- Schoen, D., & Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . III . Methods for Studying Modes and Functional Aspects of Self-Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 381–393.
- Schulte, K., Silvestro, D., Kiehlmann, E., Vesely, S., Novoa, P., & Zizka, G. (2010). Detection of recent hybridization between sympatric Chilean *Puya* species (Bromeliaceae) using AFLP markers and reconstruction of complex relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(3), 1105–1119.
- Scopece, G., Musacchio, A., Widmer, A., & Cozzolino, S. (2007). Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. *Evolution*, 61(11), 2623–2642. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00231.x>
- Scrok, G. J., & Varassin, I. G. (2011). Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 25(3), 571–576.
- Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual. In *Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual*. Springer India.

<https://doi.org/10.1007/978-81-322-2003-9>

- Siquiera Filho, J. A. (2003). *Fenologia Da Floracao, Ecologia Da Polinizacao E Conservacao de Bromeliaceae Na Floresta Atlantica Nordestina*. Universidade Federal de Pernambuco.
- Smith, L., & Downs, R. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(1), 1–658.
- Smith, L., & Downs, R. (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(2), 663–1492.
- Smith, L., & Downs, R. (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(3), 1493–2142.
- Smith, L., & Till, W. (1998). Bromeliaceae. In K. Kubitzki (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants. IV. Flowering Plants. Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)* (pp. 74–99). Springer-Verlag.
- Snedecor, G., & Cochran, W. (1989). *Statistical Methods* (8th ed.). Iowa State Press.
- Sobel, J. M., & Chen, G. F. (2014). Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution*, 68(5), 1511–1522. <https://doi.org/10.1111/evo>
- Souza, E., Versieux, L. M., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Costa, M. A. P. de C., & Martinelli, A. P. (2017). Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. *Scientia Horticulturae*, 223(February), 53–61.
- Sprinthall, R. (2014). *Basic Statistical Analysis*. (9th Editio). Pearson.
- Stebbins, G. L. (1957). Self Fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, 91(861), 337–354.
- Stebbins, G. L. (1974). *Flowering plants: evolution above the species level*. Harvard University Press.
- Stebbins, G. L. (1977). *Flowering plants: evolution above in species level*. Harvard University Press.
- Steffan-Dewenter, I., & Tschardt, T. (1999). Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia*, 121(3), 432–440. <https://doi.org/10.1007/s004420050949>
- Stevens, P. (2017). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 14, July 2017 [and More or Less Continuously Updated Since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stewart, A. B., & Dudash, M. R. (2016). Differential pollen placement on an Old World nectar bat



- increases pollination efficiency. *Annals of Botany*, 117(1), 145–152. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv163>
- Straube, F., & Bianconi, G. (2002). Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiroptera Neotropical*, 8(1), 150–152.
- Stroo, A. (2000). Pollen morphological evolution in bat pollinated plants. *Plant Systematics and Evolution*, 222, 225–242.
- Subhash, R., Keim, J., & Solymos, P. (2019). *ResourceSelection: Resource Selection (Probability) Functions for Use-Availability Data. R package version 0.3-5.*
- Tallmon, D. A., Luikart, G., & Waples, R. S. (2004). The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(9), 489–496.
- Teixido, A. L., & Aizen, M. A. (2019). Reproductive assurance weakens pollinator-mediated selection on flower size in an annual mixed-mating species. *Annals of Botany*, 123, 1067–1077. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz014>
- Theiss, K., Holsinger, K., & Evans, M. (2010). Breeding system variation in 10 evening primroses ( *Oenothera* sections *Anogra* and *Kleinia* ; Onagraceae). *American Journal of Botany*, 97(6), 1031–1039.
- Timm, R., & LaVal, R. (2000). Mammals. In N. Nadkarni & N. Wheelwright (Eds.), *Monteverde: Ecology and Conservation of a Tropical Cloud Forest* (pp. 223–243). Oxford University Press.
- Torres, C. (2000). Pollen size evolution: Correlation between pollen volume and pistil length in Asteraceae. *Sexual Plant Reproduction*, 12(6), 365–370. <https://doi.org/10.1007/s004970000030>
- Tschapka, M., & Dressler, S. (2002). Chiropterophily: On bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine*, 19(2), 114–125. <https://doi.org/10.1111/1467-8748.00340>
- Tschapka, M., Dressler, S., & von Helversen, O. (2006). Bat visits to *Marcgravia pittieri* and notes on the inflorescence diversity within the genus *Marcgravia* (Marcgraviaceae). *Flora*, 383–388.
- Tschapka, M., & Von Helversen, O. (2007). Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Costa Rican lowland rain

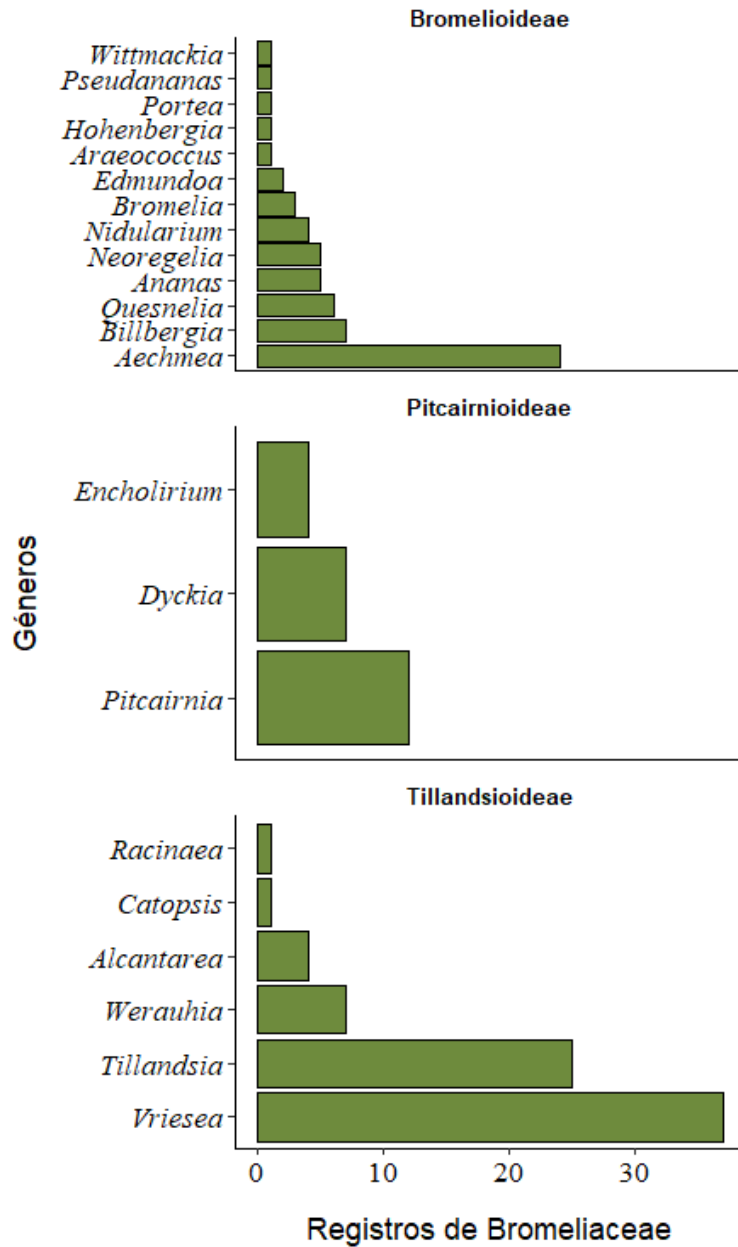
- forest. *Journal of Tropical Ecology*, 23(4), 385–395.
- Utley, J. (1983). A revision of the middle american Tehecophylloid Vrieseas (Bromeliaceae). *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 24(1), 1–81.
- Vaz Mondo, V. H., Cicero, S. M., Dourado-Neto, D., Pupim, T. L., & Dias, M. A. N. (2013). Vigor de sementes e crescimento inicial da cultura do milho. *Journal of Seed Science*, 35(1), 64–69. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000100009>
- Vervaeke, I., Parton, E., Maene, L., Deroose, R., & De Proft, M. P. (2001). Prefertilization barriers between different bromeliaceae. *Euphytica*, 118(1), 91–97.
- Wang, X.-P., Yu, W.-B., Sun, S.-G., & Huang, S.-Q. (2016). Pollen size strongly correlates with stigma depth among *Pedicularis* species. *Journal of Integrative Plant Biology*, 58(10), 818–821. <https://doi.org/10.1111/jipb.12477>
- Webb, C., & Lloyd, D. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II . Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24, 163–178.
- Weber, M. G., & Strauss, S. Y. (2016). Coexistence in Close Relatives: Beyond Competition and Reproductive Isolation in Sister Taxa. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47, 359–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054048>
- Wendt, T., Canela, M. B. F., Klein, D. E., & Rios, R. I. (2002). Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 232(3–4), 201–212.
- Wendt, T., Coser, T. S., Matallana, G., & Guilherme, F. A. G. (2008). An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 275(1–2), 31–41.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2 - Elegant Graphics for Data Analysis* | Hadley Wickham | Springer (Second). Springer-Verlag Nueva York.
- Widmer, A., Lexer, C., & Cozzolino, S. (2009). Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity*, 102(1), 31–38. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.69>
- Wilcock, C., & Neiland, R. (2002). Review Pollination failure in plants: why it happens and when it

- matters. *Trends in Plant Science*, 7(6), 270–277.
- Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80–83.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press.
- Wilson, D., Cole, R., Nichols, J., Rudran, R., & Foster, M. (1996). *Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for mammals*. Smithsonian Institution Press.
- Wolowski, M., Saad, C., Ashman, T., & Freitas, L. (2013). Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the Neotropics. In *Naturwissenschaften*. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0995-0>
- Wright, S. I., Slotte, T., & Kalisz, S. (2013). Evolutionary consequences of self-fertilization in plants. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1760), 1–10.
- Xu, X., Meng, Q. L., Geng, M. F., Ren, N. N., Zhou, L., Du, Y. S., Cai, Z., Wang, M. X., Wang, X., Wang, X. H., Han, J. D., Jiang, S., Jing, C. Y., Liu, R., Zheng, X. M., Yang, Q. W., Zhang, F. M., & Ge, S. (2020). Divergence in flowering time is a major component contributing to reproductive isolation between two wild rice species (*Oryza rufipogon* and *O. nivara*). *Science China Life Sciences*, 63(11), 1714–1724. <https://doi.org/10.1007/s11427-019-1678-6>
- Yang, C. F., Gituru, R. W., & Guo, Y. H. (2007). Reproductive isolation of two sympatric louseworts, *Pedicularis rhinanthoides* and *Pedicularis longiflora* (Orobanchaceae): How does the same pollinator type avoid interspecific pollen transfer? *Biological Journal of the Linnean Society*, 90(1), 37–48. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00709.x>
- York, H. A., Rodríguez-Herrera, B., Laval, R. K., Timm, R. M., & Lindsay, K. E. (2019). Field key to the bats of Costa Rica and Nicaragua. *Journal of Mammalogy*, 100(6), 1726–1749. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyz150>
- Zangerl, A., Berenbaum, M., & Nitao, J. (1991). Parthenocarpic fruits in wild parsnip : decoy defence against a specialist herbivore. *Evolutionary Ecology*, 5, 136–145.
- Zar, J. (2010). *Biostatistical analysis (5th ed.)*. Prentice-Hall/Pearson.
- Zhi-Quiang, Z., & Quing-Jun, L. (2008). Autonomous selfing provides reproductive assurance in an

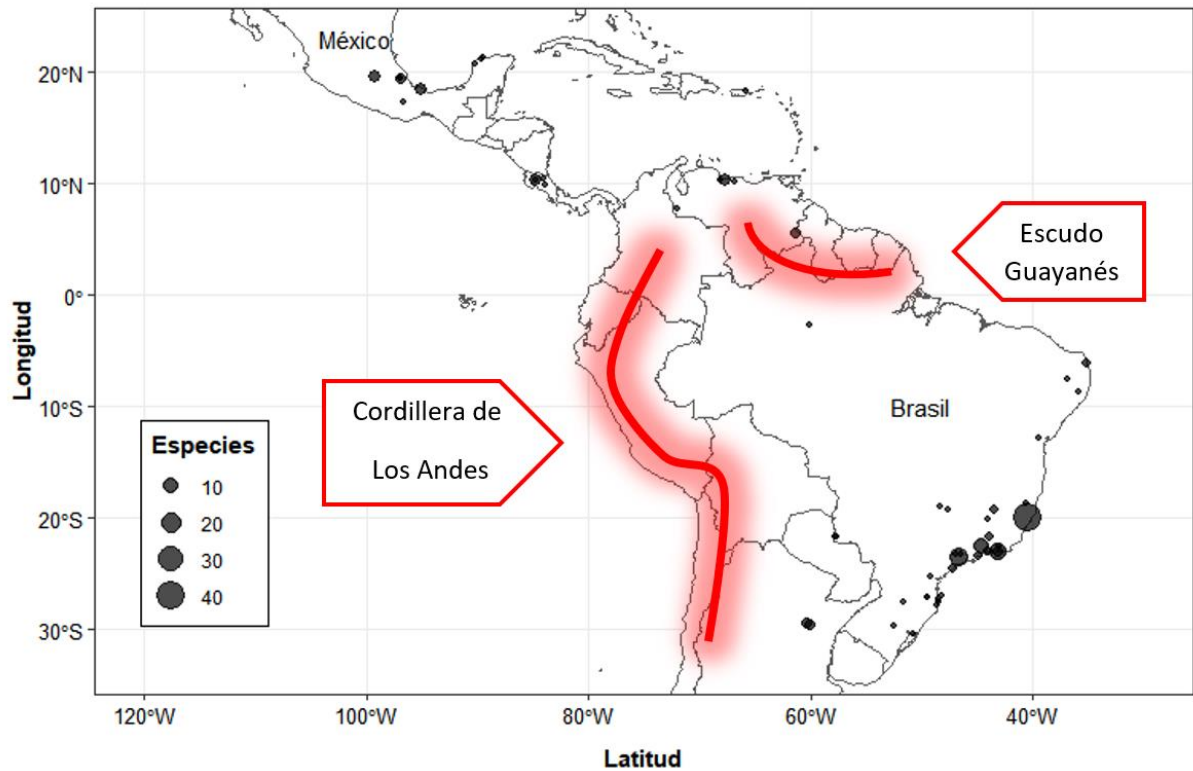
alpine ginger *Roscoea schneideriana* (Zingiberaceae). *Annals of Botany*, 102(4), 531–538. <https://doi.org/10.1093/aob/mcnl36>

Zizka, A., Azevedo, J., Leme, E., Neves, B., Costa, A. F., Caceres, D., & Zizka, G. (2019). Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). *Diversity and Distributions*, 26(2), 183–195. <https://doi.org/10.1111/ddi.13004>

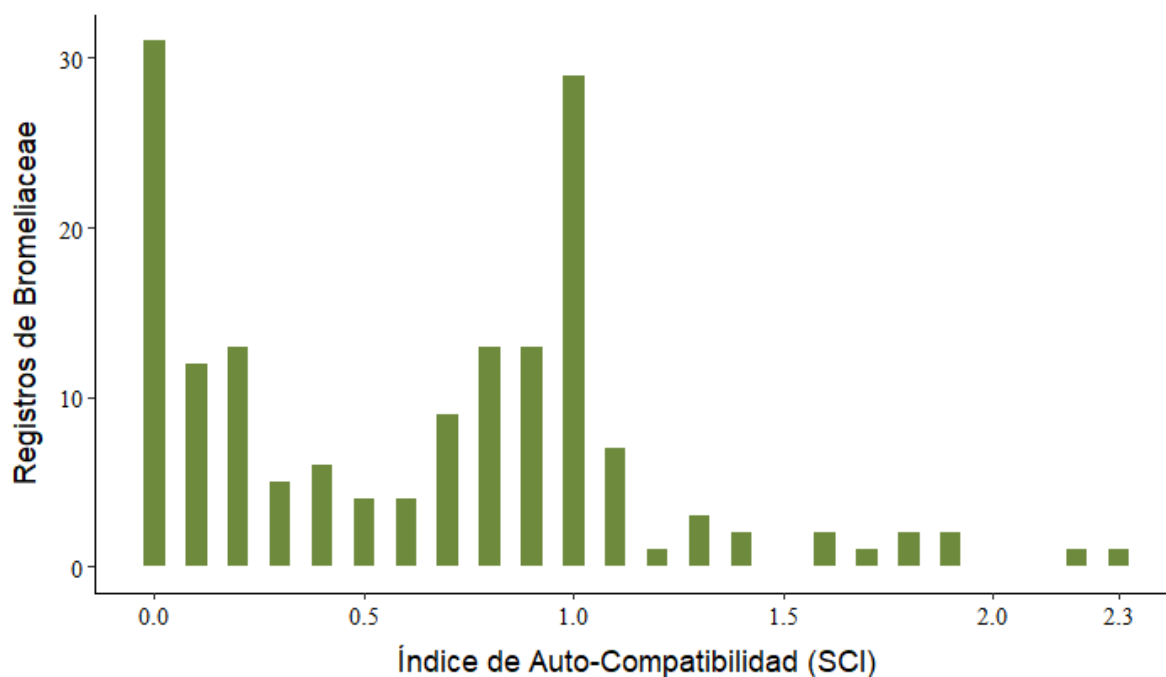
Zotz, G. (2013). The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(3), 453–481. <https://doi.org/10.1111/boj.12010>



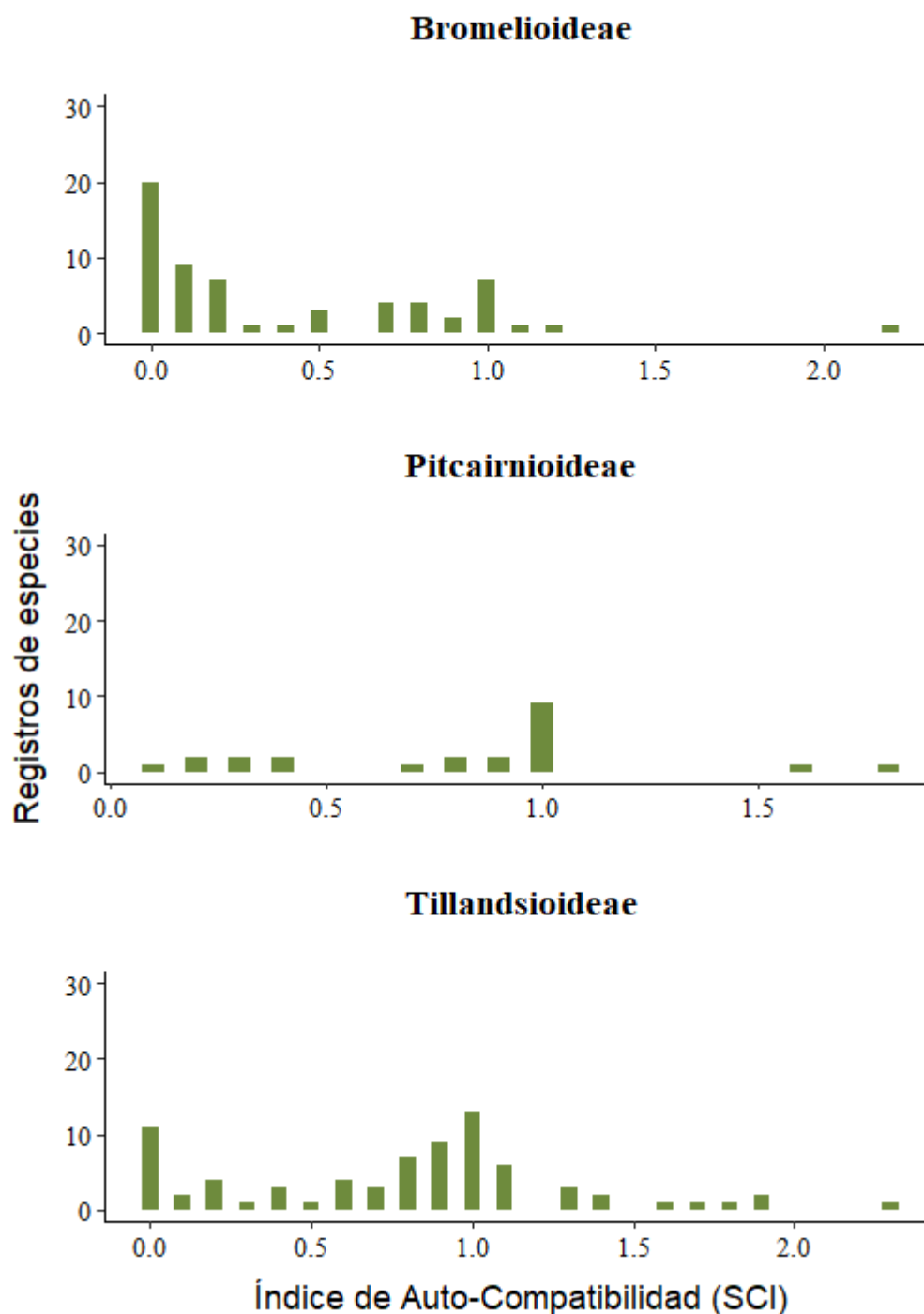
**Figura 1.** Número de registros recopilados por géneros y por subfamilias mayormente representadas (Bromelioideae = 62, Pitcairnioideae = 23, Tillandsioideae = 74) en el estudio de los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae por medio de tratamientos de controles de polinización, datos publicados entre 1994-2020 (mayo).



**Figura 2.** Mapa que muestra la localización de las poblaciones de 161 especies de Bromeliaceae en las que se ha estudiado sus sistemas reproductivos sexuales, en el periodo 1994-2020 (mayo). El tamaño de los círculos está relacionado con la cantidad de especies investigadas en cada sitio. Áreas rojas corresponden a centros de diversidad de la familia con ausencia de investigación.

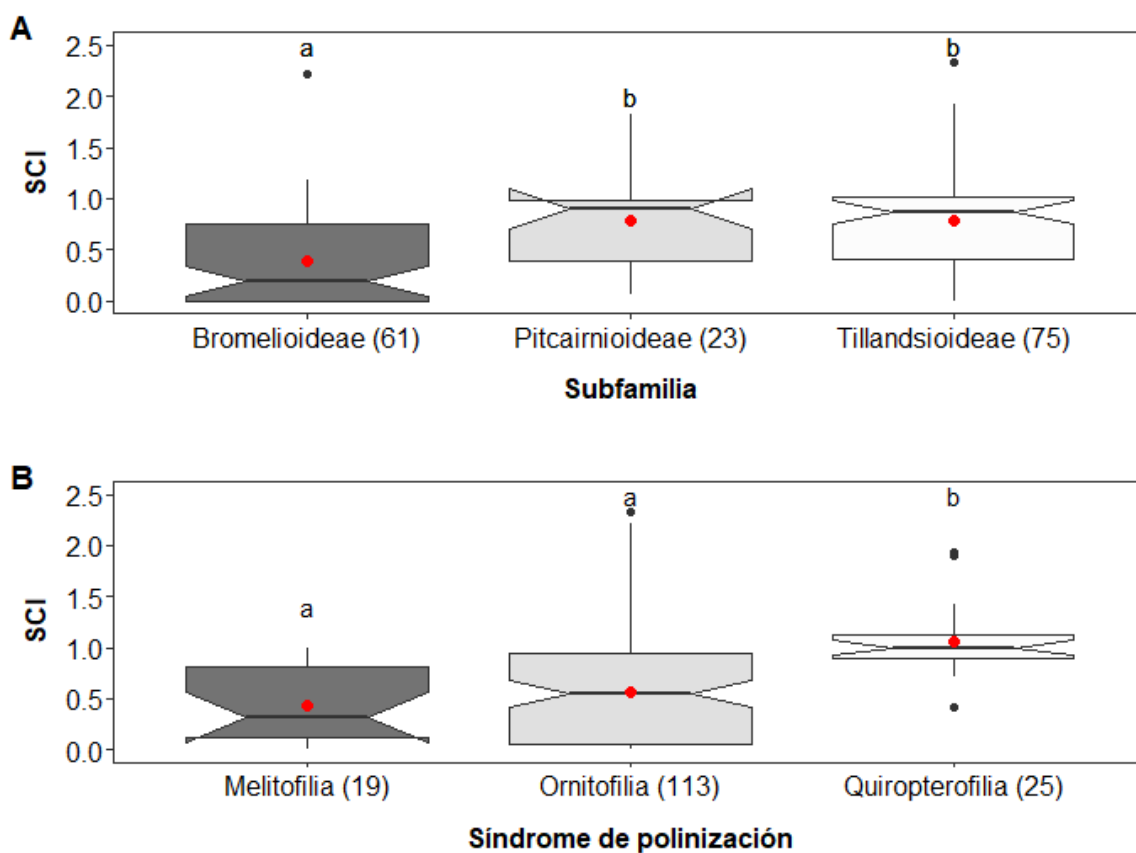


**Figura 3.** Distribución de frecuencias del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) según datos de proporción frutos/flores para 161 registros, provenientes de cuatro subfamilias (Brochnioideae = 1, Bromelioideae= 61, Lindmanioideae=1, Pitcairnioideae=23, Tillandsioideae=75) de la familia Bromeliaceae, publicados entre 1994-2020 (mayo).  $SCI \geq 1$  indica auto-compatibilidad completa,  $SCI = 0$  auto-incompatibilidad completa.

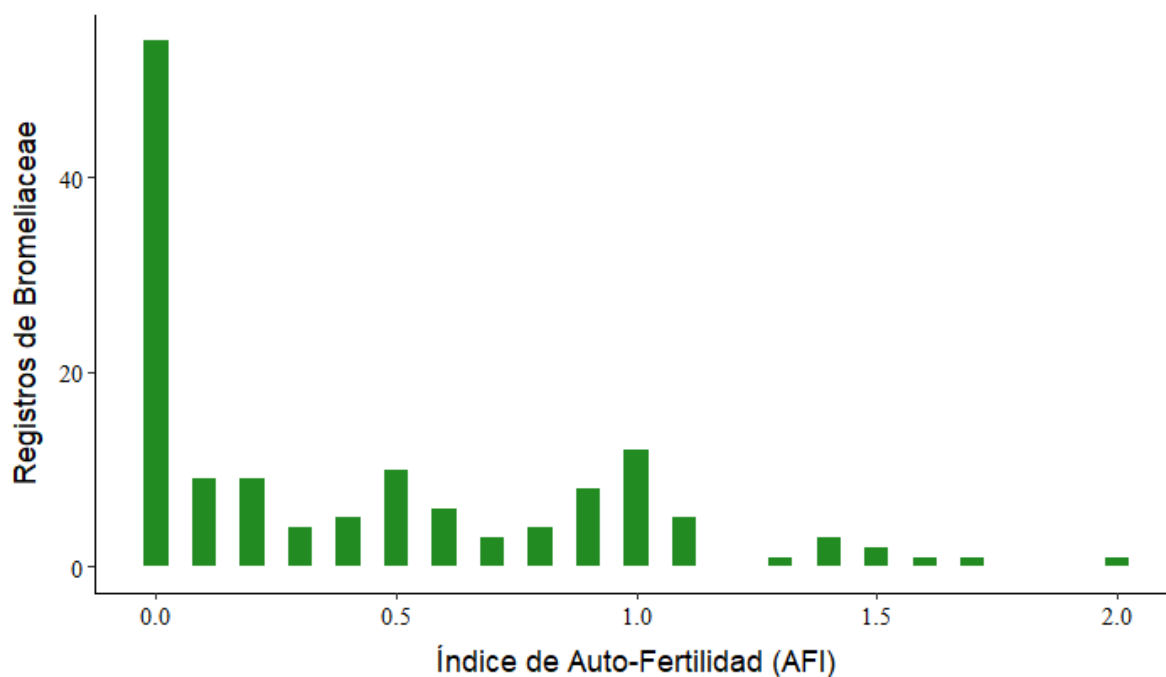


**Figura 4.** Distribución de frecuencias por subfamilias de Bromeliaceae de acuerdo con los valores del *Índice de Auto-Compatibilidad (SCI)*. N= 56 publicaciones en el período 1994 – 2020 (mayo).  $SCI \geq 1$  indica auto-compatibilidad completa,  $SCI = 0$  auto-incompatibilidad completa.

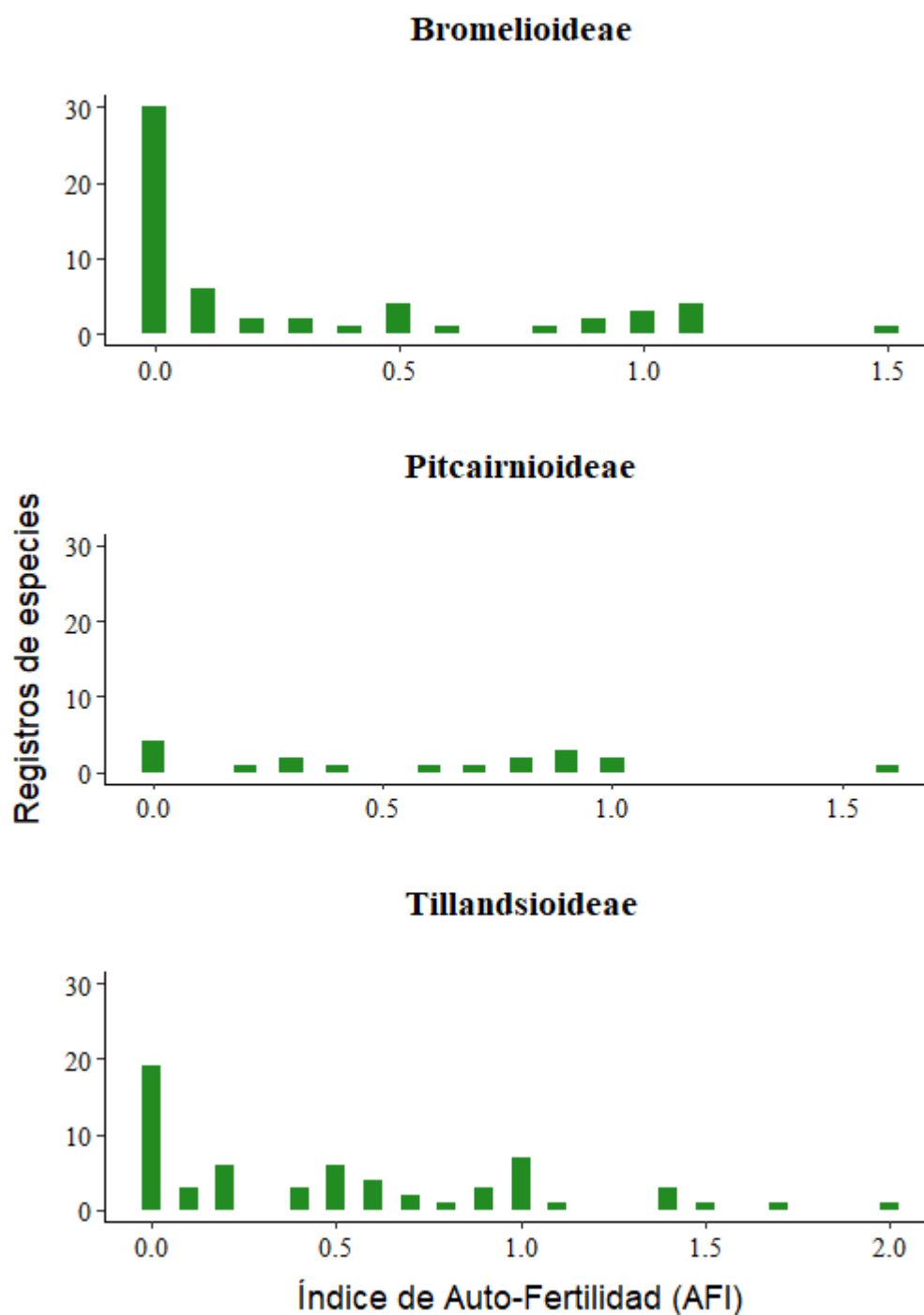




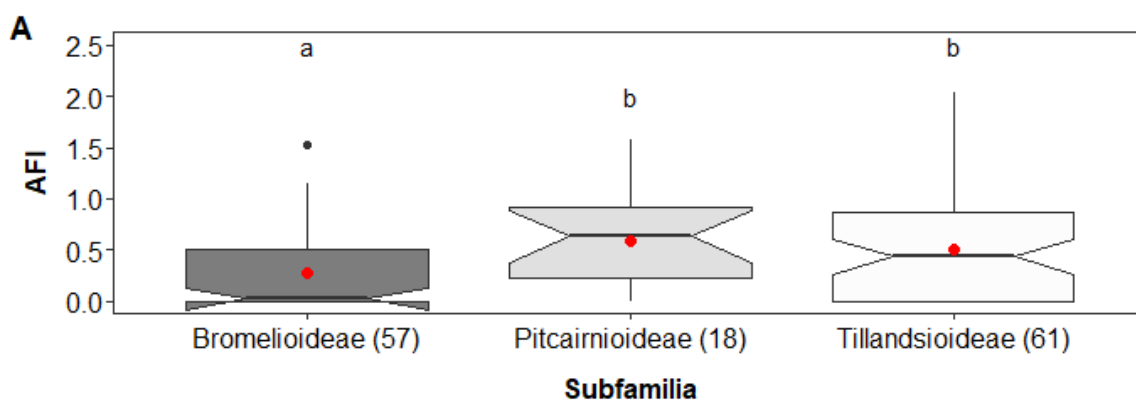
**Figura 5.** Distribución de los valores del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) para los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae según “subfamilia” y “síndrome de polinización”. Los números entre paréntesis indican la cantidad de especies.  $SCI \geq 1$  indica auto-compatibilidad completa,  $SCI = 0$  auto-incompatibilidad completa. Las letras indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo con el Wilcoxon Test ( $p < 0.05$ ). La caja incluye los percentiles 25 - 75%, la línea oscura indica la mediana, el punto rojo indica el promedio, los bigotes indican el rango de distribución de las observaciones y se presentan los puntos atípicos. Las muescas representan los intervalos de confianza (95 %) para las medianas.



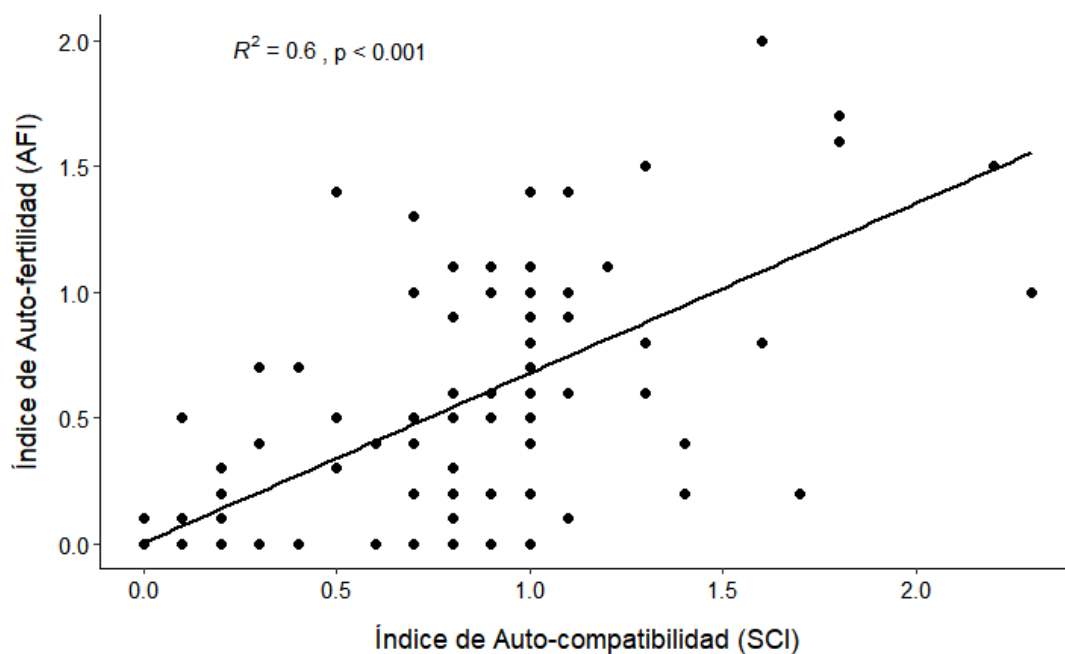
**Figura 6.** Distribución de frecuencias del *Índice de Auto-Fertilidad* (AFI) para 138 registros, provenientes de cuatro subfamilias (Brochnioideae = 1, Bromelioideae= 57, Lindmanioideae=1, Pitcairnioideae=18, Tillandsioideae=61) de la familia Bromeliaceae. AFI calculado según proporción de frutos/flores, datos publicados entre 1994-2020 (mayo).  $AFI \geq 1$  indica auto-fertilidad completa,  $AFI = 0$  ausencia de auto-fertilidad completa.



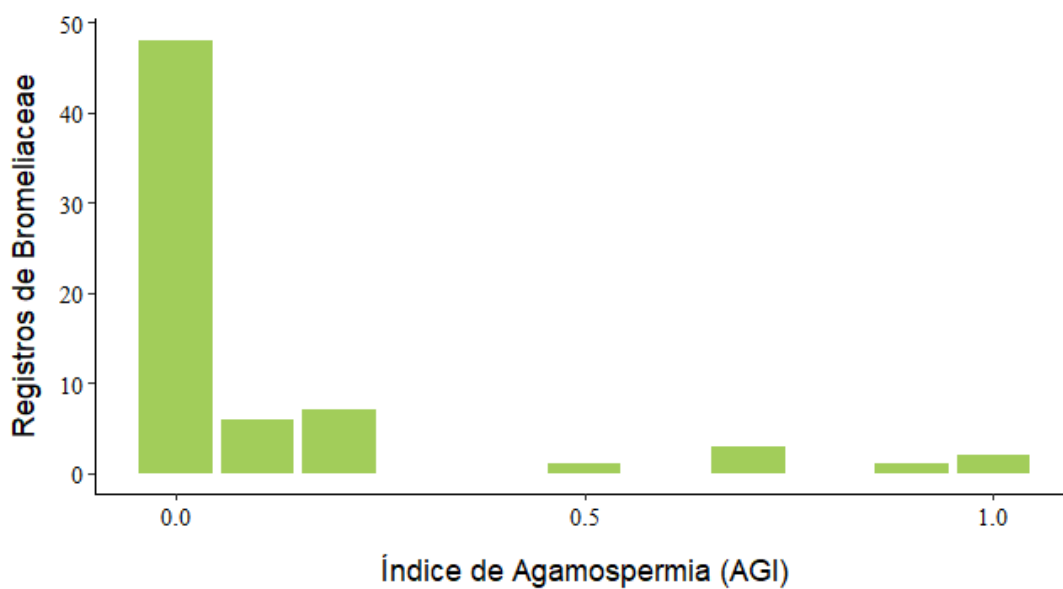
**Figura 7.** Distribución de frecuencias por subfamilias de Bromeliaceae de acuerdo con los valores del *Índice de Auto-Fertilización* (AFI). N= 56 publicaciones en el período 1994 – 2020 (mayo). SCI  $\geq 1$  indica auto-fertilidad completa, SCI = 0 ausencia de auto-fertilidad completa.



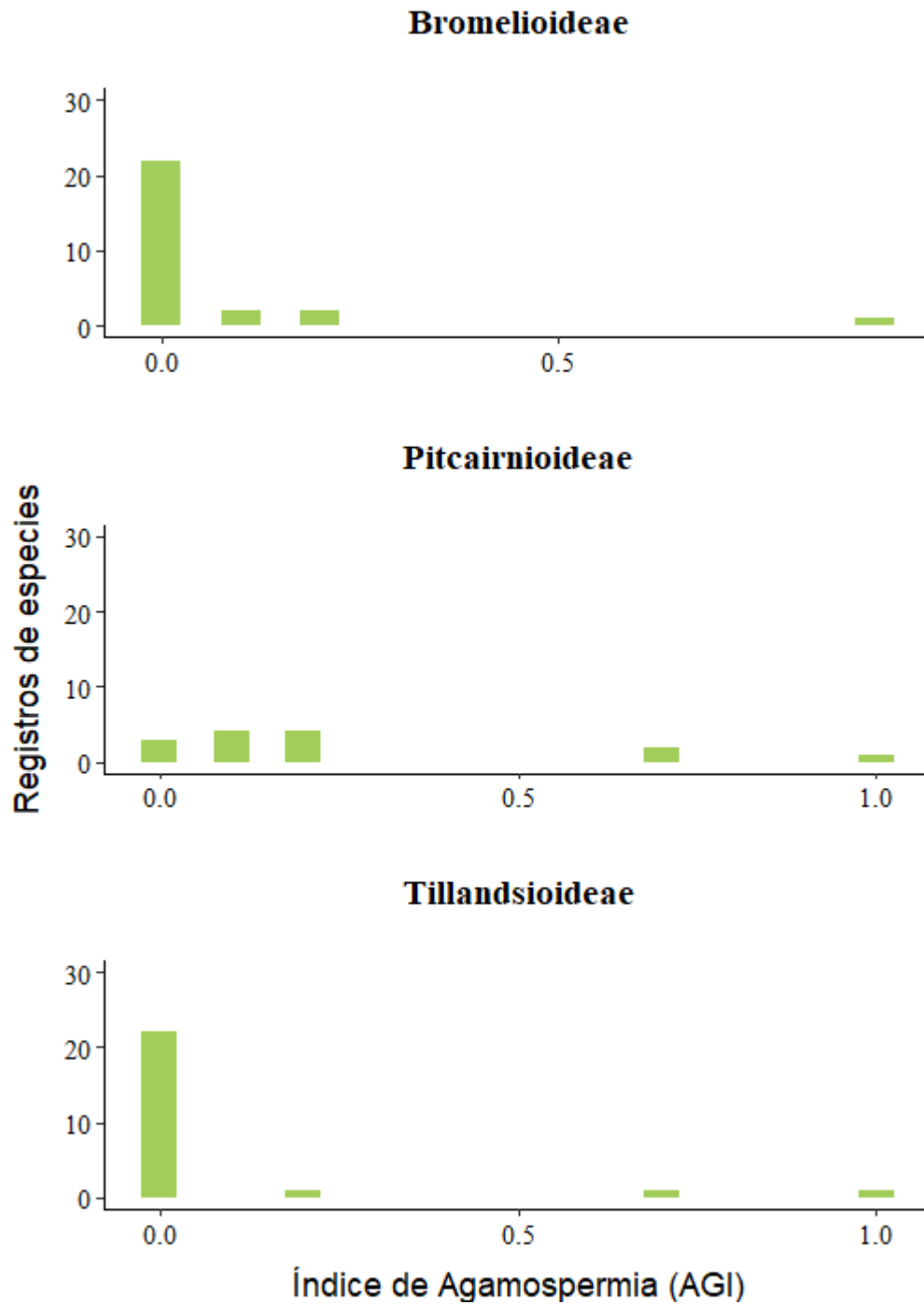
**Figura 8.** Distribución de los valores del *Índice de Auto-Fertilización* (AFI) para los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae según “subfamilia. Los números entre paréntesis indican la cantidad de especies.  $SCI \geq 1$  indica auto-fertilidad completa,  $SCI = 0$  ausencia de auto-fertilidad completa. Las letras indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo con el Wilcoxon Test ( $p < 0.05$ ). La caja incluye los percentiles 25-75%, la línea oscura indica la mediana, el punto rojo indica el promedio, los bigotes indican el rango de distribución de las observaciones y se presentan los puntos atípicos. Las muescas representan los intervalos de confianza (95 %) para las medianas.



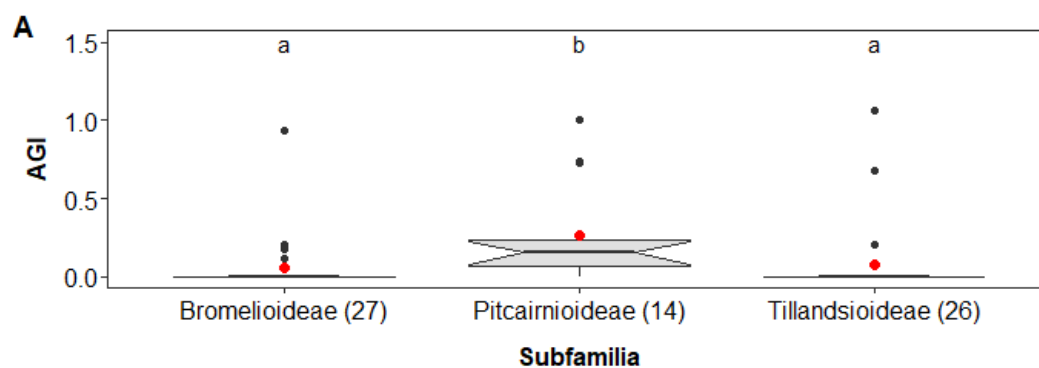
**Figura 9.** Gráfico de dispersión entre el valor del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) y de *Auto-Fertilización* (AFI) para 142 observaciones provenientes de cuatro subfamilias (Brocchinoideae = 1, Bromelioideae = 62, Lindmanioideae = 1, Pitcairnioideae = 23, Tillandsioideae = 74) de la familia Bromeliaceae, según proporción de frutos/flores, datos publicados entre 1994-2020 (mayo).  $R = 0.77$ ,  $P < 0.001$ .



**Figura 10.** Distribución de frecuencias del *Índice de Agamospermia* (AGI) según datos de proporción frutos/flores para 68 registros, provenientes de cuatro subfamilias. (Brochinnioideae=1, Bromelioideae = 27, Lindmanioideae= 1, Pitcairnioideae = 14, Tillandsioideae = 26) de la familia Bromeliaceae, publicados entre 1994-2020 (mayo).  $AGI \geq 1$  indica agamospermia,  $AGI = 0$  ausencia de agamospermia completa.



**Figura 11.** Distribución de frecuencias por subfamilias de Bromeliaceae de acuerdo con los valores del *Índice de Agamospermia* (AGI). N= 56 publicaciones en el período 1994 – 2020 (mayo).  $SCI \geq 1$  indica agamospermia completa,  $SCI = 0$  ausencia de agamospermia completa.



**Figura 12.** Distribución de valores del *Índice de Agamospermia* (AGI) para los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae según “subfamilia”. Los números entre paréntesis indican la cantidad de especies.  $AGI \geq 1$  indica agamospermia completa,  $AGI = 0$  ausencia de agamospermia completa. Las letras indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo con el Wilcoxon Test ( $p < 0.05$ ). La caja incluye los percentiles 25-75%, la línea oscura indica la media, el punto rojo el promedio, los bigotes indican el rango de distribución de las observaciones y se presentan los puntos atípicos. Las muescas representan los intervalos de confianza (95 %) para las medianas.

## Material suplementario

**Cuadro S1.** Lista de información y literatura consultada (1994-2020 (mayo)) según estudios basados en tratamientos de polinización (AP-M= Auto-polinización manual, EP-M= Exo-polinización manual, AP-E= Auto-polinización espontánea, Nat=Natural, AG= Agamospermia, SCI= Índice de Auto-Compatibilidad, AFI= Índice de Auto-Fertilización, AGI= Índice de Agamospermia) para el estudio de los sistemas reproductivos de la familia Bromeliaceae.

Especie	Refer.	Sitio	Hábito	Síndrome polinización	AP-M % (fr/fl)	EP-M % (fr/fl)	AP-E % (fr/fl)	Nat. % (fr/fl)	AG % (fr/fl)	SCI	AFI	AGI
<b>Brocchinioideae</b>												
<i>Brocchinia reducta</i>	41	Venezuela	T	Mel	30% (3/10)	41.7% (5/12)	53.3% (16/30)	-	21.7% (5/23)	0.7	1.3	0.5
<b>Bromelioideae</b>												
<i>Aechmea araneosa</i>	32	Brasil	T	Orn	53.9% (55/102)	79% (79/100)	31.3% (31/99)	-	-	0.7	0.4	-
<i>Aechmea beeriana</i>	33	Brasil	E	Orn	0% (0/36)	70.7% (29/41)	0% (0/163)	97.9% (145/148)	0% (0/26)	0	0	0
<i>Aechmea bicolor</i>	50	Brasil	T	Orn	0% (0/96)	95.3% (82/86)	0% (0/162)	-	0% (0/25)	0	0	0
<i>Aechmea bracteata</i>	38	México	E	Orn	72/72	100% (64/64)	100% (66/66)	100% (270/270)	94% (90/96)	1	1	0.9
<i>Aechmea bromeliifolia</i>	50	Brasil	F	Orn	100% (100/100)	100% (75/75)	100% (100/100)	-	16.6% (5/30)	1	1	0.2
<i>Aechmea capixabae</i>	32	Brasil	T	Orn	69.2% (9/13)	93.1% (27/29)	0% (0/15)	-	-	0.7	0	-
<i>Aechmea caudata</i>	25	Brasil	T	Mel	16.9% (9/53)	85.7% (60/70)	1.3% (1/78)	79.5% (62/78)	0% (0/6)	0.2	0.2	0
<i>Aechmea distichantha</i>	48	Brasil	F	Orn	45% (9/20)	50% (10/20)	30% (6/20)	80% (16/20)	10% (2/20)	0.9	0.6	0.2
<i>Aechmea distichantha</i>	6	Argentina	F	Orn	5.6% (3/54)	93.6% (41/43)	-	-	-	0.1	-	-
<i>Aechmea distichantha</i>	50	Brasil	F	Orn	33.3% (32/96)	70.8% (51/72)	21.9% (18/82)	-	8% (2/25)	0.5	0.3	0.1
<i>Aechmea fasciata</i>	50	Brasil	E	Orn	5.6% (5/89)	59.5% (53/89)	0% (0/75)	-	0% (0/25)	0.1	0	0
<i>Aechmea kertesziae</i>	20	Brasil	T	Mel	0% (0/18)	57.9% (11/19)	0% (0/15)	78.4% (29/37)	0% (0/12)	0	0	0
<i>Aechmea lamarchei</i>	32	Brasil	T	Orn	31.7% (13/41)	39.2% (29/74)	2.3% (1/43)	-	-	0.8	0.1	-
<i>Aechmea lasserii</i>	42	Venezuela	E	Orn	40.8% (29/71)	90% (36/40)	24.4% (44/180)	-	-	0.5	0.3	-
<i>Aechmea lindenii</i>	29	Brasil	F	Orn	88.3% (53/60)	90% (54/60)	96.7% (238/246)	97.9% (740/756)	92.1% (221/240)	1	1.1	1
<i>Aechmea macrochlamys</i>	32	Brasil	T	Orn	70% (28/40)	100% (30/30)	53.3% (32/60)	-	-	0.7	0.5	-



<i>Aechmea mutica</i>	32	Brasil	T	Orn	42.4% (39/92)	61.4% (43/70)	13.6% (15/110)	-	-	0.7	0.2	-
<i>Aechmea nudicaulis</i>	32	Brasil	E	Orn	0% (0/38)	100% (24/24)	6.9% (2/29)	-	-	0	0.1	-
<i>Aechmea nudicaulis</i>	50	Brasil	E	Orn	0% (0/105)	96.6% (87/93)	0% (0/145)	-	0% (0/25)	0	0	0
<i>Aechmea nudicaulis</i>	56	Brasil	E	Orn	2.1% (1/48)	62.1% (36/58)	2.4% (1/42)	-	-	0	0	-
<i>Aechmea pectinata</i>	11	Brasil	F	Orn	0% (0/37)	96% (24/25)	0% (0/171)	56% (398/716)	-	0	0	-
<i>Aechmea pineliana</i>	32	Brasil	T	Orn	5.6% (2/36)	59% (46/78)	3.8% (3/80)	-	-	0.1	0.1	-
<i>Aechmea vanhoutteana</i>	56	Brasil	T	Orn	20.7% (94/455)	91.7% (154/168)	0.4% (1/227)	-	-	0.2	0	-
<i>Aechmea winkleri</i>	10	Brasil	T	Mel	0% (0/13)	100% (12/12)	0% (0/11)	100% (37/37)	0% (0/27)	0	0	0
<i>Ananas ananassoideus</i>	50	Brasil	T	Orn	9.52% (4/42)	93.3% (42/45)	0% (0/46)	-	0% (0/33)	0.1	0	0
<i>Ananas ananassoideus</i>	17	Brasil	T	Orn	18.9% (7/37)	89.7% (35/39)	0% (0/30)	80% (32/40)	0% (0/30)	0.2	0	0
<i>Ananas bracteatus</i>	50	Brasil	T	Orn	2.9% (2/69)	100% (62/62)	0% (0/57)	-	0% (0/62)	0	0	0
<i>Ananas lucidus</i>	50	Brasil	T	Orn	2.6% (1/38)	100% (38/38)	0% (0/31)	-	0% (0/29)	0	0	0
<i>Ananas parguazensis</i>	50	Brasil	T	Orn	9.5% (2/21)	69.5% (16/23)	0% (0/23)	-	0% (0/21)	0.1	0	0
<i>Araeococcus parviflorus</i>	49	Brasil	E	Mel	0% (0/49)	30% (6/20)	0% (0/227)	23% (382/1657)	-	0	0	-
<i>Billbergia amoena</i>	32	Brasil	F	Orn	7.3% (4/55)	34.5% (19/55)	0% (0/34)	-	-	0.2	0	-
<i>Billbergia bradeana</i>	32	Brasil	T	Orn	56.6% (13/23)	55% (11/20)	0% (0/20)	-	-	1	0	-
<i>Billbergia distachia</i>	37	Brasil	E	Orn	0% (0/342)	87% (181/208)	0% (0/214)	93.2% (177/190)	0% (0/188)	0	0	0
<i>Billbergia distachia</i>	56	Brasil	E	Orn	21.1% (12/57)	87% (40/46)	0% (0/95)	-	0% (0/12)	0.2	0	0
<i>Billbergia euphemiae</i>	32	Brasil	F	Orn	0% (0/11)	61.1% (11/18)	0% (0/13)	-	-	0	0	-
<i>Billbergia horrida</i>	32	Brasil	E	Orn	0% (0/9)	50% (6/12)	0% (0/8)	-	-	0	0	-
<i>Billbergia vittata</i>	32	Brasil	F	Orn	0% (0/15)	37.5% (3/8)	0% (0/13)	-	-	0	0	-
<i>Bromelia antiacantha</i>	12	Brasil	T	Orn	14% (4/28)	92% (22/24)	0% (0/896)	50% (662/1320)	-	0.2	0	-
<i>Bromelia hieronymi</i>	19	Brasil	T	Fal	0% (0/34)	46% (17/37)	0% (0/34)	86.5% (32/37)	0% (0/33)	0	0	0
<i>Bromelia serra</i>	6	Argentina	F	Orn	0% (0/55)	68% (17/25)	-	-	-	0	-	-

<i>Edmundoa lindeni</i>	32	Brasil	T	Orn	92.9% (92/99)	88.5% (77/87)	75% (51/68)	-	-	1	0.8	-
<i>Edmundoa lindeni</i>	28	Brasil	T	Orn	97.7% (127/130)	5% (1/20)	5% (1/20)	82.4% (108/131)	-	0.1	0.1	-
<i>Hohenbergia a ridleyi</i>	14	Brasil	E	Mel	80% (30/37)	80% (32/40)	41.4% (24/58)	60% (142/238)	4.8% (1/21)	1	0.5	0.1
<i>Neoregelia guttata</i>	32	Brasil	T	Orn	100% (9/9)	45% (9/20)	68.4% (13/19)	-	-	2.2	1.5	-
<i>Neoregelia ibitipocensis</i>	18	Brasil	T	Mel	0% (0/31)	74.3% (26/35)	0% (0/33)	42.2% (70/166)	0% (0/21)	0	0	0
<i>Neoregelia macrosepala</i>	32	Brasil	T	Orn	10.8% (7/65)	28.6% (12/42)	0% (0/33)	-	-	0.4	0	-
<i>Neoregelia oligantha</i>	18	Brasil	T	Mel	46.1% (6/13)	50% (5/10)	53.8% (7/13)	66.7% (12/18)	0% (0/15)	0.9	1.1	0
<i>Neoregelia pauciflora</i>	32	Brasil	E	Orn	0% (0/11)	58.3% (7/12)	0% (0/5)	-	-	0	0	-
<i>Nidularium cariacicaense</i>	32	Brasil	E	Orn	90.5% (19/21)	76.5% (13/17)	87.5% (14/16)	-	-	1.2	1.1	-
<i>Nidularium espiritosantense</i>	32	Brasil	F	Orn	69.4% (25/36)	91.7% (22/24)	80% (16/20)	-	-	0.8	0.9	-
<i>Nidularium itatiaiae</i>	56	Brasil	T	Orn	15.4% (19/123)	82.1% (96/117)	4.5% (10/224)	-	0% (0/1)	0.2	0.1	0
<i>Nidularium procerum</i>	32	Brasil	F	Orn	16.7% (6/36)	22.2% (6/27)	10.2% (6/59)	-	-	0.8	0.5	-
<i>Portea fosteriana</i>	32	Brasil	T	Orn	10.5% (6/57)	88.7% (47/53)	1.7% (1/58)	-	-	0.1	0	-
<i>Pseudananas sagenarius</i>	50	Brasil	T	Orn	100% (28/28)	100% (45/45)	100% (23/23)	-	0% (0/45)	1	1	0
<i>Quesnelia arvensis</i>	31	Brasil	F	Orn	20% (2/10)	70% (7/10)	-	86% (43/50)	-	0.3	-	-
<i>Quesnelia augustocoburgii</i>	56	Brasil	E	Orn	3.1% (2/65)	60.3% (38/63)	3.3% (3/92)	-	0% (0/30)	0.1	0.1	0
<i>Quesnelia lateralis</i>	31	Brasil	F	Orn	7.6% (1/13)	80% (8/10)	-	44% (22/50)	-	0.1	-	-
<i>Quesnelia mamorata</i>	32	Brasil	E	Orn	0% (0/7)	50% (3/6)	0% (0/5)	-	-	0	0	-
<i>Quesnelia quesneliana</i>	32	Brasil	T	Orn	69.2% (9/13)	84.2% (16/19)	93.3% (14/15)	-	-	0.8	1.1	-
<i>Quesnelia strobilispica</i>	32	Brasil	E	Orn	24% (6/25)	52.9% (9/17)	26.3% (5/19)	-	-	0.5	0.5	-
<i>Wittmackia patentissima</i>	14	Brasil	E	Mel	95.7% (380/397)	96% (430/448)	79% (305/386)	90% (4781/5312)	3.7% (5/137)	1	0.8	0
<b>Lindmanioideae</b>												
<i>Lindmania guianensis</i>	41	Brasil	T				0% (0/50)	-	0% (0/27)	0.3	0	0
<b>Pitcairnioideae</b>												

<i>Dyckia brevifolia</i>	46	Brasil	T	Mel	90% (45/50)	94% (47/50)	94% (47/50)	100% (50/50)	70% (35/50)	1	1	0.7
<i>Dyckia distachya</i>	55	Brasil	T	Mel	8.3% (4/48)	56.7% (17/30)	16.5% (85/516)	66.7% (28/42)	3.2% (1/31)	0.1	0.3	0.1
<i>Dyckia encholirioides</i>	26	Brasil	T	Mel	26.7% (8/30)	83.3% (25/30)	36.7% (11/30)	93.3% (28/30)	6.7% (2/30)	0.3	0.4	0.1
<i>Dyckia excelsa</i>	30	Brasil	T	Orn	11% (8/73)	35% (25/72)	0% (0/65)	56% (37/66)	0% (0/65)	0.3	0	0
<i>Dyckia ferox</i>	6	Argentina	F	Mel	17.6% (6/34)	81.2% (13/16)	-	-	-	0.2	-	-
<i>Dyckia ibiramensis</i>	23	Brasil	T	Mel	26.1% (6/23)	66.7% (16/24)	44.1% (211/478)	88.5% (634/716)	15% (3/20)	0.4	0.7	0.2
<i>Dyckia tuberosa</i>	52	Brasil	T	Orn	3.1% (1/32)	67% (122/182)	2.7% (6/222)	64.1% (25/39)	-	0	0	-
<i>Encholirium heloisae</i>	15	Brasil	T	Orn	33% (9/27)	83% (5/6)	-	60% (259/430)	-	0.4	-	-
<i>Encholirium horridum</i>	24	Brasil	T	Qui	100% (31/31)	100% (40/40)	100% (53/53)	-	100% (26/26)	1	1	1
<i>Encholirium spectabile</i>	39	Brasil	T	Qui	71.4% (15/21)	100% (25/25)	0% (0/50)	85.3% (30/35)	-	0.7	0	-
<i>Encholirium vogelii</i>	15	Brasil	T	Qui	57% (8/14)	58% (15/26)	-	61% (982/1623)	-	1	-	-
<i>Pitcairnia albiflos</i>	53	Brasil	T	Fal	86.4% (70/81)	91.9% (34/37)	14.7% (5/34)	87.9% (416/473)	18.6% (8/43)	0.9	0.2	0.2
<i>Pitcairnia albiflos</i>	54	Brasil	T	Fal	77.7% (14/18)	100% (4/4)	28.5% (2/7)	34.3% (59/172)	0% (0/10)	0.8	0.3	0
<i>Pitcairnia altensteinii</i>	42	Venezuela	E	Orn	96% (48/50)	100% (31/31)	94.4% (168/177)	-	-	1	0.9	-
<i>Pitcairnia brittoniana</i>	8	CR	F	Orn	100% (44/44)	100% (12/12)	-	-	-	1	-	-
<i>Pitcairnia brittoniana</i>	9	CR	E	Orn	90.9% (20/22)	95.2% (20/21)	76% (19/25)	85% (17/20)	10.3% (3/29)	1	0.8	0.1
<i>Pitcairnia corcovadensis</i>	54	Brasil	T	Orn	80% (8/10)	43.7% (7/16)	68.9% (35/51)	89.1% (33/37)	32% (8/25)	1.8	1.6	0.7
<i>Pitcairnia flammea</i>	31	Brasil	T	Orn	66.7% (10/15)	86.1% (31/36)	-	82% (41/50)	-	0.8	-	-
<i>Pitcairnia flammea</i>	54	Brasil	T	Orn	73.3% (44/60)	46.6% (7/15)	35.5% (11/31)	82.2% (249/303)	10.5% (4/38)	1.6	0.8	0.2
<i>Pitcairnia flammea</i>	56	Brasil	T	Orn	88.3% (53/60)	92.7% (76/82)	55.2% (16/29)	-	0% (0/11)	1	0.6	0
<i>Pitcairnia heterophylla</i>	45	CR	E	Orn	100% (15/15)	100% (19/19)	89% (26/29)	100% (20/20)	6.7% (1/15)	1	0.9	0.1
<i>Pitcairnia recurvata</i>	3	México	E	Qui	50% (7/14)	57.1% (8/14)	0% (0/15)	75% (15/20)	-	0.9	0	-

<i>Pitcairnia staminea</i>	53	Brasil	F	Mel	88.4% (107/121)	90% (54/60)	82.8% (53/64)	57.9% (670/1156)	17.3% (13/75)	1	0.9	0.2
<b>Tillandsioideae</b>												
<i>Alcantarea extensa</i>	32	Brasil	T	Qui	100% (17/17)	70% (7/10)	30% (6/20)	-	-	1.4	0.4	-
<i>Alcantarea imperialis</i>	31	Brasil	T	Qui	85.4% (41/48)	84.3% (43/51)	-	92% (46/50)	-	1	-	-
<i>Alcantarea nahoumii</i>	5	Brasil	T	Orn	10% (10/100)	52% (41/76)	0% (0/104)	35% (31/86)	0% (0/98)	0.2	0	0
<i>Alcantarea nahoumii</i>	50	Brasil	T	Orn	53.3% (8/15)	87.5% (14/16)	0% (0/22)	-	0% (0/12)	0.6	0	0
<i>Catopsis berteroniana</i>	41	Venezuela	E	Mel	35.7% (10/28)	59.1% (13/22)	23.5% (55/234)	-	0% (0/26)	0.6	0.4	0
<i>Tillandsia viridiflora</i>	3	México	E	Qui	78.6% (11/14)	75% (12/16)	64.3% (9/14)	68.4% (13/19)	-	1	0.9	-
<i>Racinaea spiculosa</i>	32	Brasil	E	Mel	9.2% (19/24)	100% (18/18)	54.2% (6/11)	-	-	0.1	0.5	-
<i>Tillandsia achyrostachys</i>	35	México	E	Orn	0% (0/17)	73.7% (15/19)	0% (0/49)	64.9% (98/151)	-	0	0	-
<i>Tillandsia aeranthos</i>	7	Argentina	E	Orn	0% (0/58)	64% (32/50)	0% (0/62)	20.6% (51/248)	0% (0/30)	0	0	0
<i>Tillandsia caput-medusa</i>	35	México	E	Orn	0% (0/39)	19.6% (10/51)	0.4% (1/228)	7% (38/545)	-	0	0	-
<i>Tillandsia circinnatioides</i>	35	México	E	Orn	7.7% (1/13)	20% (3/15)	0% (0/45)	12% (28/233)	-	0.4	0	-
<i>Tillandsia dasyliriifolia</i>	43	México	E	Fal	92.7% (102/110)	90.5% (38/42)	93% (574/617)	87.4% (707/809)	0% (0/42)	1	1	0
<i>Tillandsia durantii</i>	21	Brasil	E	Mel	25% (12/48)	76.7% (23/30)	53.3% (16/30)	42.5% (154/362)	-	0.3	0.7	-
<i>Tillandsia elongata var. subimbricata</i>	40	Venezuela	E	Orn	42.8% (9/21)	64.3% (9/14)	63.8% (30/47)	50% (45/90)	0% (0/15)	0.7	1	0
<i>Tillandsia funkiana</i>	40	Venezuela	T	Orn	17.4% (4/23)	84.6% (11/13)	7.9% (3/38)	52% (52/100)	0% (0/32)	0.2	0.1	0
<i>Tillandsia geminiflora</i>	32	Brasil	E	Orn	69.4% (25/36)	42.9% (3/7)	87.5% (7/8)	-	-	1.6	2	-
<i>Tillandsia geminiflora</i>	56	Brasil	E	Orn	0% (0/23)	95.7% (22/23)	0% (0/17)	-	-	0	0	-
<i>Tillandsia heterophylla</i>	1	México	E	Qui	57.1% (8/14)	58.8% (10/17)	61.1% (11/18)	-	62.5% (10/16)	1	1	1.1

<i>Tillandsia hubertiana</i>	35	México	E	Orn	0% (0/45)	82.4% (42/51)	1.1% (6/57)	16.5% (110/668)	-	0	0	-
<i>Tillandsia ixioides</i>	7	Argentina	E	Orn	1.8% (1/56)	69% (40/58)	0% (0/28)	27% (17/64)	0% (0/28)	0	0	0
<i>Tillandsia juncea</i>	22	México	E	Orn	67% (19/28)	67% (25/37)	48% (80/167)	-	-	1	0.7	-
<i>Tillandsia macropetala</i>	2	México	E	Qui	34.8% (8/23)	34.5% (10/29)	13.04% (6/46)	-	0% (0/24)	1	0.4	0
<i>Tillandsia meridionalis</i>	7	Argentina	E	Orn	0% (0/57)	43.3% (26/60)	0% (0/47)	20.8% (36/173)	0% (0/30)	0	0	0
<i>Tillandsia multicaulis</i>	22	México	E	Orn	0% (0/45)	56% (24/42)	0% (0/94)	-	-	0	0	-
<i>Tillandsia prodigiosa</i>	16	México	E	Orn	92.8% (13/14)	95% (19/20)	95.8% (23/24)	73.9% (17/23)	64.7% (11/17)	1	1	0.7
<i>Tillandsia punctulata</i>	22	México	E	Orn	0% (0/42)	42% (18/42)	0% (0/64)	-	-	0	0	-
<i>Tillandsia schiedeana</i>	35	México	E	Orn	28.5% (15/39)	41.3% (19/46)	41.7% (25/60)	21.7% (88/405)	-	0.9	1	-
<i>Tillandsia schiedeana</i>	40	Venezuela	E	Orn	58.1% (25/43)	53.7% (22/41)	30.9% (13/42)	44.2% (19/43)	0% (0/20)	1.1	0.6	0
<i>Tillandsia streptophylla</i>	44	México	E	Orn	0% (0/47)	80.4% (37/46)	0% (0/255)	52.9% (405/765)	0% (0/49)	0	0	0
<i>Tillandsia stricta</i>	32	Brasil	E	Orn	6.3% (1/16)	14.3% (1/7)	0% (0/9)	-	-	0.4	0	-
<i>Tillandsia tenuifolia</i>	32	Brasil	E	Orn	80% (8/10)	100% (6/6)	0% (0/4)	-	-	0.8	0	-
<i>Vriesea aff. fenestralis</i>	32	Brasil	F	Qui	68.8% (11/16)	76.9% (10/13)	37.5% (15/40)	-	-	0.9	0.5	-
<i>Vriesea bituminosa</i>	31	Brasil	F	Qui	66.6% (4/6)	83.3% (5/6)	-	-	-	0.8	-	-
<i>Vriesea bituminosa</i>	32	Brasil	F	Qui	19.2% (5/26)	24% (6/25)	0% (0/26)	-	-	0.8	0	0
<i>Vriesea carinata</i>	50	Brasil	E	Orn	6.6% (1/15)	81.2% (13/15)	0% (0/15)	-	0% (0/8)	0.1	0	0
<i>Vriesea carinata</i>	56	Brasil	E	Orn	71.4% (5/7)	75% (3/4)	40% (2/5)	-	-	1	0.5	-
<i>Vriesea carinata</i>	4	Brasil	E	Orn	0% (0/10)	3% (3/4)	-	31.3% (15/48)	-	0	-	-
<i>Vriesea delicatula</i>	32	Brasil	E	Orn	87.5% (7/8)	70% (7/10)	40% (2/5)	-	-	1.3	0.6	-
<i>Vriesea ensiformis</i>	31	Brasil	E	Orn	20% (2/10)	33.3% (3/9)	-	65% (26/40)	-	0.6	-	-
<i>Vriesea ensiformis</i>	32	Brasil	E, T	Orn	87.5% (14/16)	37.5% (6/16)	36.4% (4/11)	-	-	2.3	1	0
<i>Vriesea ensiformis</i>	4	Brasil	E	Orn	60% (6/10)	70% (7/10)	-	26.7% (23/86)	-	0.9	-	-

<i>Vriesea friburgensis</i>	36	Brasil	E, T	Orn	58.9% (23/39)	55.17% (16/29)	6.8% (8/117)	58.2% (57/98)	-	1.1	0.1	-
<i>Vriesea friburgensis</i>	50	Brasil	F	Orn	72.7% (16/22)	88.5% (23/26)	13% (3/23)	-	0% (0/15)	0.8	0.1	0
<i>Vriesea gracilior</i>	32	Brasil	F	Orn	52.9% (9/17)	31.3% (5/16)	7.4% (2/27)	-	-	1.7	0.2	-
<i>Vriesea gradata</i>	56	Brasil	F	Orn	30.8% (8/26)	31.25% (8/22)	5.7% (5/88)	-	-	1	0.2	-
<i>Vriesea heterostachys</i>	31	Brasil	E	Orn	60% (6/10)	66.7% (4/6)	-	64% (32/50)	-	0.9	-	-
<i>Vriesea incurvata</i>	31	Brasil	E	Orn	25% (1/4)	40% (2/5)	-	-	-	0.6	-	-
<i>Vriesea kautskyana</i>	32	Brasil	E	Orn	50% (8/16)	40% (6/15)	58.3% (7/12)	-	-	1.3	1.5	-
<i>Vriesea longicaulis</i>	32	Brasil	T	Orn	8.7% (4/46)	44.4% (16/36)	4.2% (1/24)	-	-	0.2	0.1	-
<i>Vriesea longicaulis</i>	56	Brasil	T	Qui	66.7% (14/21)	48.3% (10/20)	11.7% (9/77)	-	0% (0/2)	1.4	0.2	0
<i>Vriesea longiscapa</i>	31	Brasil	F	Qui	25% (3/12)	60% (6/10)	-	86% (43/50)	-	0.4	-	-
<i>Vriesea michaelii</i>	50	Brasil	E	Orn	86.6% (13/15)	100% (15/15)	0% (1/25)	-	0% (0/8)	0.9	0	0
<i>Vriesea minarum</i>	47	Brasil	T	Orn	75% (9/12)	41.7% (5/12)	38.7% (11/16)	94.7% (18/19)	-	1.8	1.7	-
<i>Vriesea neoglutinosa</i>	31	Brasil	F	Orn	31% (9/29)	36.8% (7/19)	-	82% (41/50)	-	0.8	-	-
<i>Vriesea paraibica</i>	50	Brasil	E	Orn	13.3% (2/15)	57.1% (8/14)	0% (0/12)	-	0% (0/5)	0.2	0	0
<i>Vriesea platynema</i>	42	Venezuela	E	Qui	53.3% (32/60)	57.8% (26/45)	30.8% (12/39)	-	-	0.9	0.5	-
<i>Vriesea procera</i>	32	Brasil	F	Orn	79.2% (19/24)	100% (8/8)	54.5% (6/11)	-	-	0.8	0.5	-
<i>Vriesea regina</i>	31	Brasil	T	Qui	75% (12/16)	80% (16/20)	-	73.3% (22/30)	-	0.9	-	-
<i>Vriesea ruschii</i>	32	Brasil	E	Qui	95% (19/20)	100% (20/20)	20% (4/20)	-	-	1	0.2	-
<i>Vriesea scalaris</i>	34	Brasil	E	Orn	82% (32/39)	75% (24/32)	77.3% (41/53)	34.5% (29/84)	15.3% (6/39)	1.1	1	0.2
<i>Vriesea scalaris</i>	32	Brasil	E	Orn	37.5% (6/16)	69.2% (18/26)	94.4% (17/18)	-	-	0.5	1.4	-
<i>Vriesea simplex</i>	34	Brasil	E	Orn	85.7% (30/35)	89.4% (34/38)	55.1% (27/49)	23.6% (26/110)	0% (0/19)	1	0.6	0
<i>Vriesea simplex</i>	32	Brasil	E	Orn	35.3% (6/17)	40% (6/15)	20% (4/20)	-	-	0.9	0.5	-
<i>Vriesea simplex</i>	50	Brasil	E	Orn	38.8% (7/18)	60% (18/30)	77.3% (41/53)	-	0% (0/11)	0.6	0.2	0
<i>Vriesea sparsiflora</i>	31	Brasil	F	Orn	38.9% (7/18)	57.1% (8/14)	94.4% (17/18)	54% (27/50)	-	0.7	-	-
<i>Vriesea splendens</i>	42	Venezuela	E	Qui	39.6% (38/96)	31.7% (19/60)	55.1% (27/49)	-	-	1.2	0.8	-

<i>Vriesea vagans</i>	32	Brasil	E	Orn	64.9% (37/57)	71.4% (40/56)	32.1% (18/55)	-	-	0.9	0.4	-
<i>Vriesea hydrophora</i>	31	Brasil	E	Qui	75% (2/6)	66.6% (5/10)	-	55% (11/20)	-	1.1	-	-
<i>Werauhia bracteosa</i>	8	CR	E	Qui	78% (22/28)	41% (9/22)	-	-	-	1.9	-	-
<i>Werauhia gladioliflora</i>	13	CR	E	Qui	97.3% (36/37)	94.4% (34/36)	80% (20/25)	57.7% (41/71)	-	1	0.8	-
<i>Werauhia gladioliflora</i>	51	CR	E	Qui	76.5% (13/17)	93.8% (15/16)	82.6% (19/23)	57.6% (1915/3325)	0% (0/27)	0.8	0.9	0
<i>Werauhia hygrometrica</i>	8	CR	E	Qui	89% (9/10)	46% (6/13)	-	-	-	1.9	-	-
<i>Werauhia noctiflorens</i>	3	México	E	Qui	71.4% (10/14)	68.4% (13/19)	94.7% (18/19)	72% (18/25)	-	1	1.4	-
<i>Werauhia nutans</i>	3	México	E	Qui	64.7% (11/17)	57.1% (8/14)	80.9% (17/21)	50% (10/20)	-	1.1	1.4	-
<i>Werauhia sintenisii</i>	27	Puerto Rico	E	Orn	93% (40/43)	92% (36/39)	100% (32/32)	97% (32/33)	97% (32/33)	1	1.1	1.1

Formas de vida: E = epífita, F = facultativa (epífita o terrestre), T = terrestre.

Síndrome de polinización: Mel = melitofilia, Fal = falanofilia, Orn = ornitofilia, Qui = quiropterofilia.

Cuando los valores de SCI, AFI o AGI son iguales a 1 (o cercanos) se considera a la especie: auto-compatible, autógena o agamospérmica. Si los valores de SCI, AFI o AGI son iguales a 0 (o cercanos) se considera a la especie: auto-incompatible, no autógena o no agamospérmica.

## Referencias de la base de datos

1. Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., García-Franco, J., & Macswiney G. (2015). From dusk till dawn: Nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology*, *18*(1), 37–45.
2. Aguilar-Rodríguez, P., MacSwiney G., M., Krömer, T., García-Franco, J., Knauer, A., & Kessler, M. (2014). First record of bat-pollination in the species-rich genus *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Annals of Botany*, *113*(6), 1047–1055. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu031>
3. Aguilar-Rodríguez, P., Tschapka, M., García-Franco, J., Krömer, T., & MacSwiney, M. C. (2019). Bromeliads going batty: pollinators partitioning among sympatric chiropterophilous Bromeliaceae. *AoB Plants*, *11*(2), 1–19.
4. Araujo, A. C., Fischer, E. A., & Sazima, M. (1994). Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, *17*(2), 113–118.
5. Bastos, M. J. S. M., Bastos, L. P., Souza, E. H. de, Soares, T. L., Morais, D. V., Souza, F. V. D. de, & Costa, M. A. P. de C. (2017). Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. *Acta Botanica Brasilica*, *31*(4), 665–676. <https://doi.org/10.1590/0102-33062017abb0102>
6. Bianchi, M., Gibbs, P., Prado, D., & Vespriani, J. L. (2000). Studies on the breeding systems of understory species of a Chaco woodland in NE Argentina. *Flora*, *195*, 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30992-1](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30992-1)
7. Bianchi, M. B., & Vespriani, J. L. (2014). Contrasting breeding systems in six species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from woody areas of Santa Fe Province: Argentina. *Plant Biosystems*, *148*(5), 956–964. <https://doi.org/10.1080/11263504.2013.806965>
8. Bush, S. P., & Beach, J. H. (1995). Breeding systems of epiphytes in a tropical montane wet forest. *Marie Selby Botanical Gardens Inc.*, *16*(2), 155–158.
9. Bush, S. P., & Guilbeau, J. E. (2009). Early Autonomous Selfing in the Hummingbird-Pollinated Epiphyte *Pitcairnia brittoniana*. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, *136*(3), 313–321.
10. Büttow, M. V. (2012). *Estudo do sucesso reprodutivo, dos padrões de cruzamento e do fluxo de pólen em Aechmea winkleri, uma espécie endêmica do sul do Brasil*. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, Brasil.



11. Canela, M. B. F., & Sazima, M. (2003). *Aechmea pectinata*: a Hummingbird-dependent Bromeliad with Inconspicuous Flowers from the Rainforest in South-eastern Brazil. *Annals of Botany*, 92, 731–737. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg192>
12. Canela, M., & Sazima, M. (2005). The Pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in Southeastern Brazil: Ornithophilous versus Melittophilous Features. *Plant Biology*, 7, 411–416. <https://doi.org/10.1055/s-2005-865619>
13. Cascante-Marín, A., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2005). Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Premontane tropical forest. *Plant Biology*, 7, 203–209. <https://doi.org/10.1055/s-2005-837584>
14. Cavalcante, B. P. (2018). *Biologia reprodutiva, polinização e barreiras reprodutivas em duas Bromeliaceae na Mata Atlântica do Rio Grande do Norte*. Brasil, Rio Grande do Norte, Brasil.
15. Christianini, A. V., Forzza, R. C., & Buzato, S. (2013). Divergence on floral traits and vertebrate pollinators of two endemic *Encholirium* bromeliads. *Plant Biology*, 15(2), 360–368. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00649.x>
16. Escobedo Sarti, G. J. (2007). *Biología de la Reproducción de Tillandsia prodigiosa (Lem.) Baker Bromeliaceae*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca.
17. Ferreira, C., Maruyama, P. K., & Oliveira, P. E. (2016). Convergence beyond flower morphology? Reproductive biology of hummingbird-pollinated plants in the Brazilian Cerrado. *Plant Biology*, 18, 316–324. <https://doi.org/10.1111/plb.12395>
18. Freitas, L., Ribeiro, P. C. C., Cancio, A. S., Machado, M. A., Sampaio, M. C., Forzza, R. C., & Viccini, L. F. (2020). Population demography, genetic variation and reproductive biology of two rare and endangered *Neoregelia* species (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192, 787–802.
19. Godoy, D. R. F. M., Lenzi, M., Ferreira, B. H. D. S., Da Silva, L. V., Zanella, C. M., & Paggi, G. M. (2018). High genetic diversity and moderate genetic structure in the self-incompatible, clonal *Bromelia hieronymi* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 187(4), 672–688.
20. Goetze, Márcia, Capra, F., Büttow, M. V., Zanella, C. M., & Bered, F. (2018). High genetic diversity and demographic stability in *Aechmea kertesziae* (bromeliaceae), a species of sandy coastal plains (restinga habitat) in southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*,

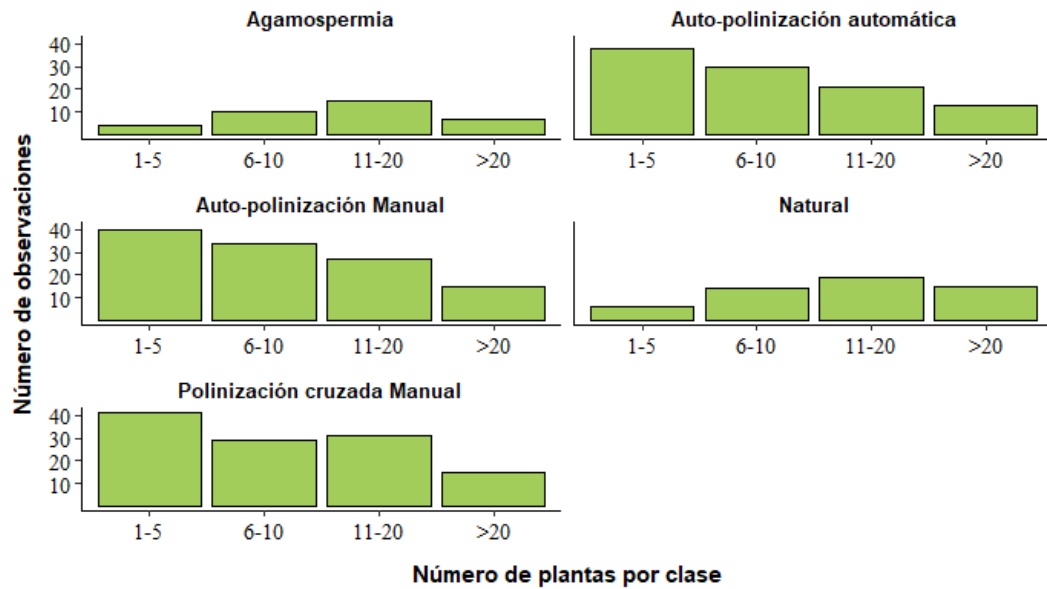
- 186(3), 374–388. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box103>
21. Gomes, A. C., Ferreira, B. H. S., Souza, C. S., Arakaki, L. M. M., Aoki, C., Paggi, G. M., & Sigrist, M. R. (2020). Adaptive response of extreme epiphyte *Tillandsia* species (Bromeliaceae) is demonstrated by different sexual reproduction strategies in the Brazilian Chaco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192, 840–854.
  22. Hietz, P., Winkler, M., Cruz-Paredes, L., & Jiménez-Aguilar, A. (2006). Breeding Systems, Fruit Set and Flowering Phenology of Epiphytic Bromeliads and Orchids in a Mexican Humid Montane Forest. *Marie Selby Botanical Gardens Inc.*, 27(2), 156–164.
  23. Hmeljevski, K., Reis, A., dos Reis, M., Rogalski, J., Neto, C., & Lenzi, M. (2007). Resultados Preliminares da Biologia Reprodutiva de *Dyckia ibiramensis* Reitz (Bromeliaceae): uma espécie rara e endêmica de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(1), 262–269.
  24. Hmeljevski, K. V., Wolowski, M., Forzza, R. C., & Freitas, L. (2017). High outcrossing rates and short-distance pollination in a species restricted to granitic inselbergs. *Australian Journal of Botany*, 65(4), 315–326. <https://doi.org/10.1071/BT16232>
  25. Kamke, R., Schmid, S., Zillikens, A., Lopes, B. C., & Steiner, J. (2011). The importance of bees as pollinators in the short corolla bromeliad *Aechmea caudata* in southern Brazil. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.12.004>
  26. Kriek, C. (2008). *Ecologia Reprodutiva de Dyckia encholirioides var. encholirioides (Gaud) Mez. (Bromeliaceae) em Costões Oceânicos em Florianópolis, Santa Catarina*. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-Santa Catarina, Brasil.
  27. Lasso, E., & Ackerman, J. (2004). The flexible breeding system of *Werauhia sintenisii*, a cloud forest bromeliad from Puerto Rico. *Biotropica*, 36(3), 414–417.
  28. Leal, R., Moreira, M., Pinto, A., Ferreira, J., Rodriguez-Girones, M., & Freitas, L. (2020). Temporal changes in the most effective pollinator of a bromeliad pollinated by bees and hummingbirds. *PeerJ*, 8, 1–22.
  29. Lenzi, M., Matos, J. Z. de, & Orth, A. I. (2006). Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 20(2), 487–500.
  30. Lenzi, M., & Paggi, G. M. (2019). Reproductive biology of *Dyckia excelsa* Leme (Bromeliaceae): a xerophyte species from ironstone outcrops in central-western Brazil. *Plant Species Biology*, 35(1), 97–108. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12261>

31. Martinelli, G. (1994). *Reproductive biology of Bromeliaceae in the Atlantic Rainforest of Southeastern Brazil*. University of St Andrews.
32. Matallana, G., Godinho, M., Guilherme, F., Belisario, M., Coser, T., & Wendt, T. (2010). Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Systematics and Evolution*, 289(1–2), 57–65. <https://doi.org/10.1007/s00606-010-0332-z>
33. Nara, A. K., & Webber, A. C. (2002). Biología floral e polinización de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixio na Amazonia central. *Acta Amazonica*, 32(4), 571–588.
34. Neri, J., Wendt, T., Leles, B., Dos Santos, M., & Palma-Silva, C. (2017). Variation in reproductive systems facilitates species boundaries of sympatric *Vriesea* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 184(2), 272–279. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box026>
35. Orozco-Ibarrola, O. A., Flores-Hernández, P. S., Victoriano-Romero, E., Corona-López, A. M., & Flores-Palacios, A. (2015). Are breeding system and florivory associated with the abundance of *Tillandsia* species (Bromeliaceae)? *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(1), 50–65. <https://doi.org/10.1111/boj.12225>
36. Paggi, G. M., Da Silveira, L. C. T., Zanella, C. M., Bruxel, M., Bered, F., Kaltchuk-Santos, E., & Palma-Silva, C. (2013). Reproductive system and fitness of *Vriesea friburgensis*, a self-sterile bromeliad species. *Plant Species Biology*, 28(3), 169–176. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2012.00374.x>
37. Pansarin, E. R., & de Pedro, S. R. M. (2016). Reproductive biology of a hummingbird-pollinated *Billbergia*: light influence on pollinator behaviour and specificity in a Brazilian semi-deciduous forest. *Plant Biology*, 18(6), 920–927. <https://doi.org/10.1111/plb.12496>
38. Pool-Chalé, M., Ramírez-Morillo, I., Carnevali Fernández-Concha, G., & Hornung-Leoni, C. T. (2018). Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). *Plant Biology*, 20(1), 113–120. <https://doi.org/10.1111/plb.12645>
39. Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, 125, 21–30.
40. Ramírez, N., & Briceño, H. (2018). Sistemas reproductivos de cuatro especies de Bromeliaceae en Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica*, 38(2), 147–162. Retrieved from

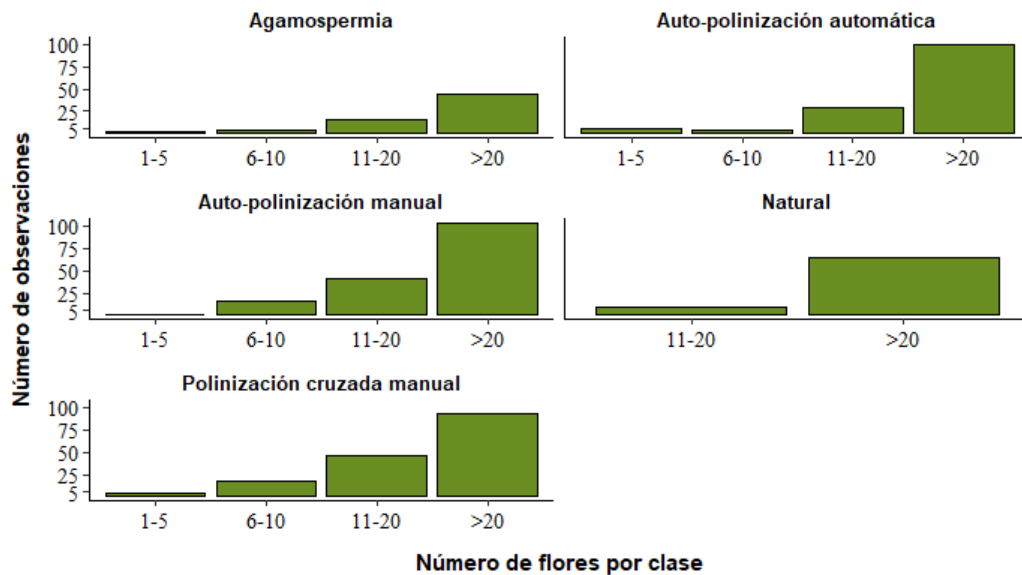
[https://www.researchgate.net/publication/338174425\\_Sistemas\\_Reproductivos\\_De\\_Cuatro\\_Especies\\_De\\_Bromeliaceae\\_En\\_Venezuela](https://www.researchgate.net/publication/338174425_Sistemas_Reproductivos_De_Cuatro_Especies_De_Bromeliaceae_En_Venezuela)

41. Ramírez, N., & Hokche, O. (2019). Outbreeding and inbreeding strategies in herbaceous-shrubby communities in the Venezuelan Gran Sabana Plateau. *AoB PLANTS*, *11*(4), 1–15.
42. Ramírez, N., & Seres, A. (1994). Plant reproductive biology of herbaceous monocots in a Venezuelan tropical cloud forest. *Plant Systematics and Evolution*, *190*, 129–142.
43. Ramírez-Morillo, I., Carnevalli Fernández-Concha, G., & Chi May, F. (2004). Portraits of Bromeliaceae from the Mexican Yucatan Península-IV: *Tillandsia dayliriifolia* Baker: Taxonomy and Reproductive Biology. *Journal of The Bromeliad Society*, *54*(3), 112–121.
44. Ramírez Morillo, I., May, F. C., Carnevali, G., & Pat, F. M. (2009). It takes two to tango: Self incompatibility in the bromeliad *Tillandsia streptophylla* (Bromeliaceae) in Mexico. *Revista Biología Tropical*, *57*(3), 761–770.
45. Ríos, L. D., & Cascante-Marín, A. (2017). High selfing capability and low pollinator visitation in the hummingbird-pollinated epiphyte *Pitcairnia heterophylla* (Bromeliaceae) at a Costa Rican mountain forest. *Revista Biología Tropical*, *65*(June), 735–743.
46. Rogalski, J. M., Reis, A., Reis, M. S. Dos, & Hmeljevski, K. V. (2009). Biologia reprodutiva da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), no Rio Itajaí-Açu, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, *32*(4), 691–702. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042009000400008>
47. Rolim, P. (2013). *Genética E Biologia Reprodutiva DE Vriesea minarum (Bromeliaceae): Em Busca De Estratégias De Conservação No Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais*. Universidad Federal do Rio Grande do Norte, Río Grande del Norte.
48. Scrok, G. J., & Varassin, I. G. (2011). Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasílica*, *25*(3), 571–576. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000300009>
49. Siquiera Filho, J. A. (2003). *Fenologia Da Floracao, Ecologia Da Polinizacao E Conservacao de Bromeliaceae Na Floresta Atlantica Nordestina*. Universidade Federal de Pernambuco.
50. Souza, E., Versieux, L. M., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Costa, M. A. P. de C., & Martinelli, A. P. (2017). Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. *Scientia Horticulturae*, *223*(February), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.027>

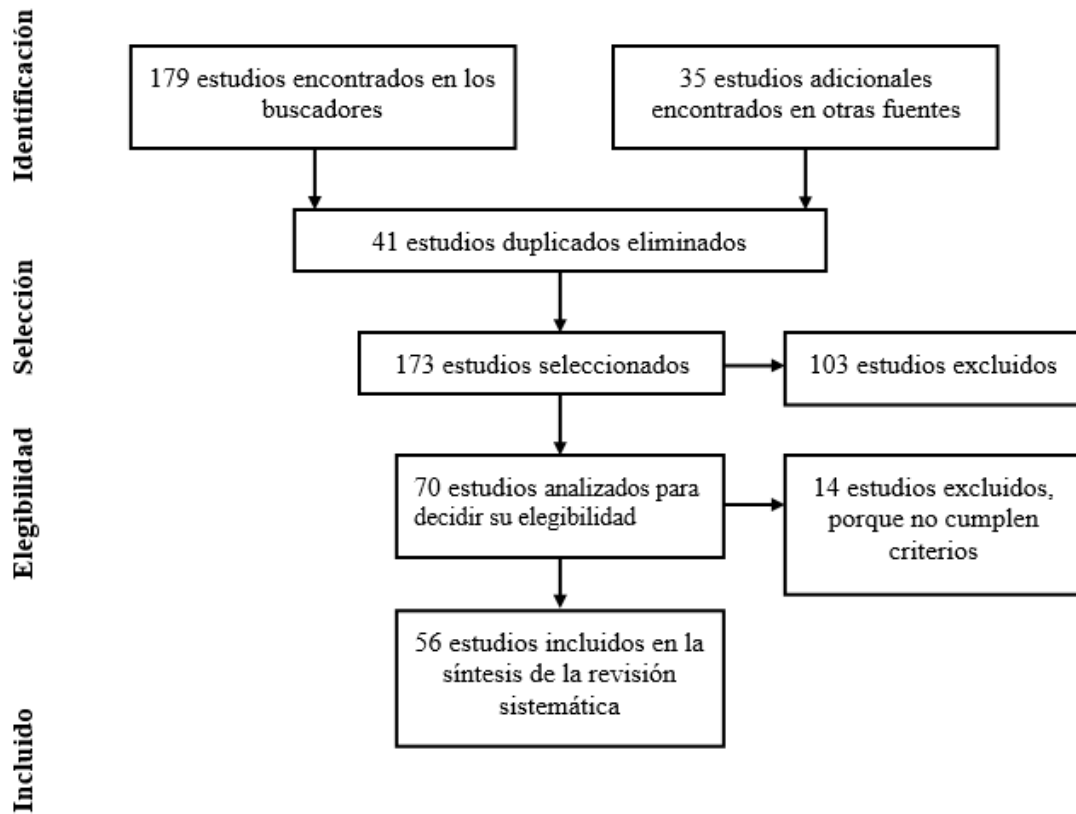
51. Tschapka, M., & Von Helversen, O. (2007). Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Costa Rican lowland rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, 23(4), 385–395. <https://doi.org/10.1017/S0266467407004129>
52. Vosgueritchian, S. B., & Buzato, S. (2006). Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(3), 433–442. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000300010>
53. Wendt, T., Canela, M., Gelli De Faria, A., & Rios, R. (2001). Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, 88(1–12), 1760–1767. <https://doi.org/10.2307/3558350>
54. Wendt, T., Canela, M. B. F., Klein, D. E., & Rios, R. I. (2002). Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 232(3–4), 201–212. <https://doi.org/10.1007/s006060200043>
55. Wiesbauer, M. B. (2008). *Biologia reprodutiva e diversidade genética de Dyckia distachya Hassler (Bromeliaceae) como subsídio para conservação e reintrodução de populações extintas na natureza*. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-Santa Catarina, Brasil.
56. Wolowski, M., Saad, C., Ashman, T., & Freitas, L. (2013). Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the Neotropics. *Naturwissenschaften*. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0995-0>



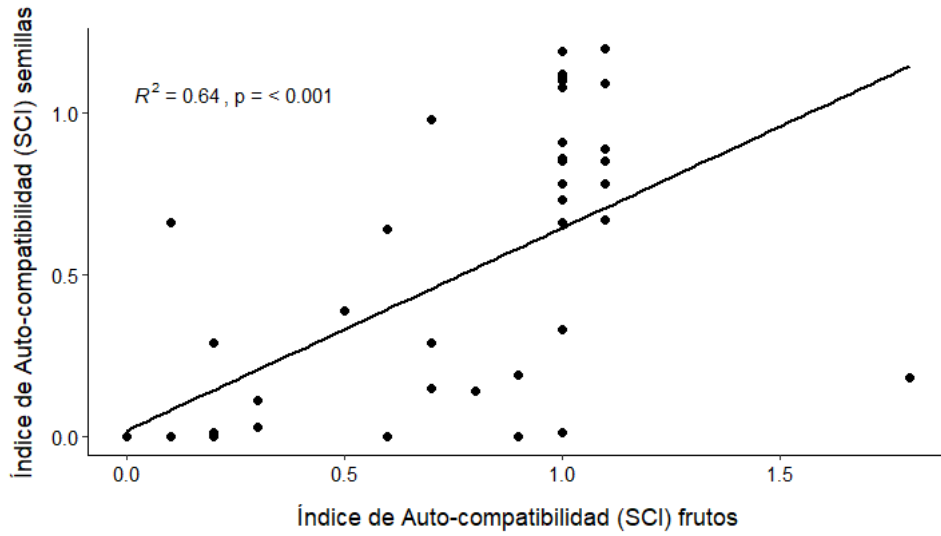
**Figura S1.** Número de plantas manipuladas por tratamiento de polinización en estudios del sistema reproductivo de la familia Bromeliaceae, datos de estudios publicados entre 1994-2020 (mayo).



**Figura S2.** Número de flores manipuladas por tratamiento de polinización en estudios del sistema reproductivo de la familia Bromeliaceae, datos de estudios publicados entre 1994-2020 (mayo).

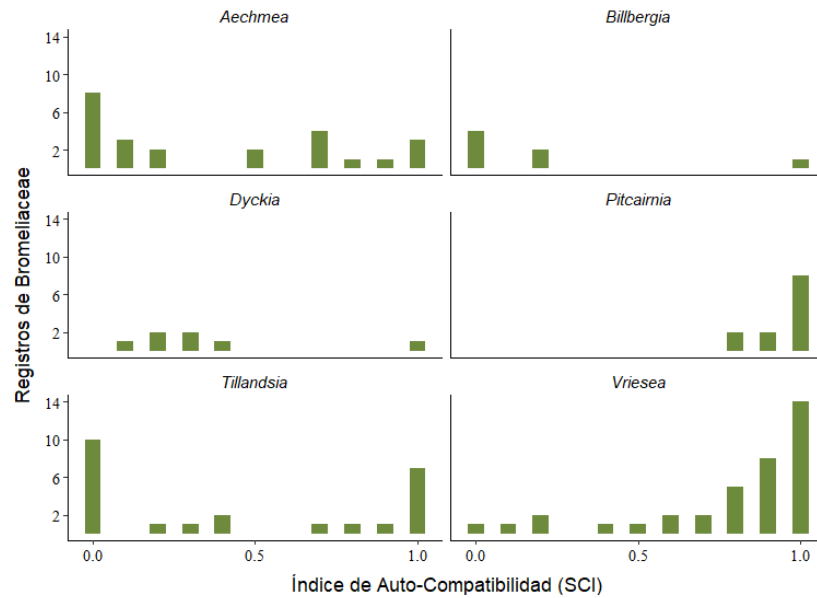


**Figura S3.** Diagrama de flujo de la información a través de las diferentes fases de la revisión sistemática de literatura de los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae, adaptado a partir de PRISMA (Liberati et al., 2009).



**Figura S4.** Gráfico de dispersión entre el valor del *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) calculado con promedio de semillas por fruto en relación al *Índice de Auto-Compatibilidad* (SCI) calculado con frutos para 52 observaciones provenientes de cuatro subfamilias (Brocchinioideae = 1, Bromelioideae= 21, Lindmanioideae=1, Pitcairnioideae=7, Tillandsioideae=22) de la familia Bromeliaceae, según promedio de semillas por fruto, datos publicados entre 1994-2020 (mayo).  $R = 0.80, P < 0.001$ .





**Figura S5.** Índice de Auto-Compatibilidad (SCI) según datos de proporción frutos/flores para los géneros con más registrados de las familias Bromelioideae (*Aechmea* y *Billbergia*), Pitcairnioideae (*Dyckia* y *Pitcairnia*) y Tillandsioideae (*Tillandsia* y *Vriesea*), publicados entre 1994-2020 (mayo).  $SCI \geq 1$  indica auto-compatibilidad completa,  $SCI = 0$  auto-incompatibilidad completa.

## Capítulo II:

### **Auto-fertilización y aseguramiento reproductivo en bromelias epífitas del género *Werauhia* J. R. Grant (Poales, Bromeliaceae) en un bosque montano, Costa Rica.**

#### **Resumen (318 palabras)**

**Introducción:** En los sistemas reproductivos de la familia Bromeliaceae prevalece la auto-compatibilidad y auto-fertilización espontánea o autogamia. La transición hacia la auto-fertilización es el cambio evolutivo más frecuente en los sistemas reproductivos de las plantas angiospermas. La hipótesis de aseguramiento reproductivo es la explicación mayormente aceptada y difundida para explicar el mantenimiento de esa estrategia reproductiva, a pesar de que la evidencia experimental es limitada.

**Objetivo:** Evaluar el grado de auto-fertilización en especies de bromelias del género *Werauhia* y determinar su importancia como estrategia de aseguramiento reproductivo.

**Métodos:** Se documentó el sistema reproductivo sexual mediante polinizaciones controladas y el mecanismo de polinización de cuatro especies simpátricas del género *Werauhia* en un bosque montano en Costa Rica. Experimentalmente se determinó la contribución de la auto-polinización al éxito reproductivo comparando la producción de frutos de flores emasculadas y controles en condiciones naturales de polinización.

**Resultados principales:** Las especies mostraron un alto grado de auto-compatibilidad ( $SCI > 0.86$ ) y auto-fertilización ( $AFI > 0.53$ ), sin agamospermia significativa. No hubo depresión endogámica significativa en la producción y germinación de semillas. La auto-polinización espontánea ocurre al final de la vida de la flor. Las especies presentaron rasgos florales típicos del síndrome de polinización por murciélagos, aunque la visitación de estos polinizadores fue muy baja. El reducido éxito reproductivo de flores emasculadas en condición de polinización natural sugiere limitación de polen. La contribución de la auto-fertilización al éxito reproductivo varió entre 0.18 – 0.80 según el Índice de aseguramiento reproductivo.

**Conclusiones:** El mecanismo de auto-fertilización tardía en las especies de estudio asegura la producción de semillas cuando las oportunidades de polinización cruzada fallaron. El bajo éxito reproductivo en condiciones naturales y baja visitación de los polinizadores reforzarían la persistencia de la auto-fertilización, cuya contribución al éxito reproductivo fue significativa. Aunque se ha propuesto a la auto-fertilización como mecanismo de aislamiento reproductivo en Bromeliaceae, los resultados de este estudio apuntan a que es un mecanismo de aseguramiento reproductivo.

**Palabras clave:** autogamia, biología reproductiva, quiropterofilia, Tillandsioideae.

## Introducción

La auto-fertilización es un cambio evolutivo en los sistemas reproductivos de plantas que conlleva el surgimiento de la auto-compatibilidad y que ha ocurrido en varios grupos de angiospermas de forma independiente (Stebbins, 1974). La auto-fertilización implica la ausencia de barreras reproductivas intra-florales, tanto temporales (dicogamia) como espaciales (hercogamia), ya que estas evitan o interfieren en la oportunidad de la auto-polinización (Lloyd & Webb, 1986; Webb & Lloyd, 1986; Barrett, 2003). A pesar de los efectos negativos por depresión endogámica que se le reconocen a la auto-fertilización (Darwin, 1876), esta transición en los sistemas reproductivos de las plantas ha sido una solución evolutiva a corto plazo que procura el aseguramiento reproductivo y permite una mejor capacidad de colonización (Baker, 1955; Wright et al., 2013). No obstante, ha sido definida como un "camino sin salida" evolutivo, ya que es irreversible y los linajes sufren un mayor riesgo de extinción debido a la reducción en el potencial de adaptación (Stebbins, 1957).

Tal como lo menciona Eckert et al. (2006), la transición hacia la auto-fertilización había sido explicada primero por Darwin (1876) en su libro "*The effect of cross fertilization and selfing in the kingdom of plants*", como estrategia de aseguramiento reproductivo. Darwin (1876) propuso que, ante condiciones ambientales adversas, deficiencia en los servicios de polinización o ante la escasez de otros individuos para reproducirse, las plantas se auto-fecundan para asegurar su éxito reproductivo y la propagación de la especie. La hipótesis se basa en la idea de que las plantas que se auto-fertilizan sufren limitación de polen (Eckert et al., 2006), una condición que reduce el número de semillas producidas y trae como consecuencia una reducción del tamaño de la población de una especie, por lo que en esas condiciones limitantes de polinización se favorecería la auto-compatibilidad y el establecimiento de la auto-fertilización como una estrategia reproductiva (Baker, 1955; Knight et al., 2005).

Para que la auto-fertilización proporcione aseguramiento reproductivo debe desarrollarse en un escenario de limitación de polen (Eckert et al., 2006), además no debería incurrir en descuento de polen y óvulos ni depresión endogámica (Knight et al., 2005). La ausencia de depresión endogámica es un factor determinante para que la auto-fertilización se establezca en los sistemas reproductivos (Charlesworth & Charlesworth, 1987; Eckert et al., 2006). Se ha propuesto que cuando la adecuación

de la progenie derivada por auto-fertilización  $W_s > 0.5$  en relación con la progenie exo-fertilizada, la auto-fertilización podría mantenerse de forma estable (Herlihy & Eckert, 2002; Eckert et al., 2006). En linajes de plantas donde la auto-fertilización ha ocurrido de forma prolongada, la depresión endogámica se ha reducido debido a la purga de genes deletéreos (Lande & Schemske, 1985; Wright et al., 2013), permitiendo a las especies producir semillas viables tanto por auto-fertilización como por fertilización cruzada (Goodwillie et al., 2005; Eckert et al., 2006).

Adicionalmente, la auto-fertilización debe ocurrir de forma “tardía” para que no interfiera en el retiro de polen (descuento de polen) ni compita con el polen exo-cruzado (descuento de óvulos), situación que ocurre cuando la auto-fertilización es “previa” o “simultánea” (Lloyd, 1992; Herlihy & Eckert, 2002). El mantenimiento de la auto-fertilización y los sistemas reproductivos mixtos en plantas se ha explicado por su función como mecanismo de “aseguramiento reproductivo”, que ha sido la hipótesis mayormente aceptada y difundida (Mallick, 2001; Herlihy & Eckert, 2002; Kalisz et al., 2004; Moeller & Geber, 2005; Moeller, 2006; Fenster & Martén-Rodríguez, 2007; Zhi-Quiang & Quing-Jun, 2008; Martén-Rodríguez & Fenster, 2010; Busch & Delph, 2012; Jones et al., 2013) y que, sin embargo, son pocos los estudios en los que se ha demostrado apropiadamente (Eckert et al., 2006; González & Pérez, 2010; Martén-Rodríguez & Fenster, 2010; Ruan et al., 2010; Brys & Jacquemyn, 2011; Brys et al., 2013; Teixido & Aizen, 2019).

El aseguramiento reproductivo no es la única hipótesis para explicar el mantenimiento de la auto-fertilización en plantas (Eckert et al., 2006). Levin (1971) propuso que la auto-fertilización predominante funciona como un mecanismo de “aislamiento reproductivo” para evitar la pérdida de integridad genética y mantener la independencia evolutiva de las especies, como cuando ocurre la generación de híbridos infértiles e inviables o con cualidades florales intermedios que imposibiliten la visita de los polinizadores habituales. Sin embargo, para que se cumpla esta hipótesis no necesariamente deberían existir problemas de limitación de polen, ya que al recibir las flores polen de otras poblaciones o polen interespecífico se asume que está recibiendo visitas de polinizadores, como contraparte a la hipótesis de “aseguramiento reproductivo” (Eckert et al., 2006)- Además, el aislamiento reproductivo puede lograrse con barreras reproductivas previo a la polinización que son frecuentes en las angiospermas (Coyne & Orr, 1998; Ramsey et al., 2003; Kay, 2006; Martin & Willis, 2007; Lowry et al., 2008).

La “competencia por los servicios de polinización” ha sido otra propuesta para explicar el mantenimiento de la auto-fertilización (Levin, 1972). No obstante, muchas plantas se han adaptado a la competencia a través de distintos mecanismos, ya sea modificando su fenología de manera que sea asincrónica con otras especies similares, desarrollando flores más llamativas, brindando diferentes tipos o cantidades de recompensas (Mosquin, 1971), con cambios en el momento de la antesis (diurna o nocturna) (Raven, 1962) o con diferencias en la morfología floral que facilitan la deposición de polen en diferentes partes del cuerpo del polinizador (Darwin, 1877; Mosquin, 1971; Dressler, 1990; Barrett, 2010).

En plantas epífitas, aquellas que desarrollan su vida sobre otras plantas, como la mayoría de bromelias y orquídeas (Zotz, 2013), la auto-fertilización es común y se ha sugerido que probablemente es debido a que poseen un despliegue floral menor que puede influir en la visitación de polinizadores (Ackerman, 1986; Barrett, 2014). La auto-fertilización es una característica del sistema reproductivo en grupos importantes de epífitas como gesneriáceas, orquídeas y bromelias (Lumer, 1980; Bush & Beach, 1995; Matallana et al., 2010; ver cap. I). Bromeliaceae es una familia de monocotiledóneas difundida exclusivamente en América (Benzing, 2000), en la que se puede encontrar una gran diversidad morfológica floral (Givnish et al., 2014). Según un estudio previo sobre los sistemas reproductivos de 161 especies de bromelias, un 58 % fueron auto-compatibles y un 41 % autógamas (ver cap. I). Esta condición está representada mayormente en la subfamilia Tillandsioideae, en géneros como, *Tillandsia* L., *Vriesea* Lindl. y *Werauhia* J.R. Grant (Smith & Till, 1998; Benzing, 2000; ver cap. I). Particularmente, para la familia se ha propuesto el aislamiento reproductivo para explicar la preponderancia y el mantenimiento de la auto-fertilización (Wendt et al., 2002; Matallana et al., 2010). Sin embargo, aún no existe evidencia convincente a favor de alguna de estas hipótesis en este grupo de monocotiledóneas.

En el género de bromelias *Werauhia* J. R. Grant (subfamilia Tillandsioideae) (Utley, 1983; Grant, 1995) la auto-fertilización es frecuente y se ha documentado en seis especies: *W. bracteosa* (Mez & Wercklé) J.R. Grant, *W. gladioliflora* (H. Wendl.) J.R. Grant, *W. hygrometrica* (André) J.R. Grant, *W. noctiflorens* T. Krömer, Espejo, López-Ferr. & Acebey, *W. nutans* (L.B. Sm.) J.R. Grant y *W. sintenisii* (Baker) J.R. Grant (Bush & Beach, 1995; Lasso & Ackerman, 2004; Cascante-Marín et al., 2005; Tschapka & Von Helversen, 2007; Aguilar-Rodríguez, Tschapka, et al., 2019). Las causas que podrían estar detrás del mantenimiento de ese sistema reproductivo en este género aún no se han

identificado. *Werauhia* se compone de epífitas cuyo centro de diversidad está entre Costa Rica y Panamá (Grant, 1995). El género se considera monofilético (Barfuss et al., 2005) y se han descrito 93 especies (BSI, 2020) de las cuales cerca de dos tercios se distribuyen en Costa Rica (Morales, 2003) con una alta presencia de endemismo en el país (Morales, 2003; Cáceres et al., 2013). La polinización de *Werauhia* se ha asociado a la quiropterofilia (murciélagos) debido a sus flores de coloración blanca, crema o verdosa y anthesis nocturna (Utley, 1983; Grant, 1995), sin embargo, solo se ha documentado apropiadamente en *W. gladioliflora*, *W. noctiflorens* y *W. nutans* (Cascante-Marín et al., 2005; Tschapka & Von Helversen, 2007; Aguilar-Rodríguez, Tschapka, et al., 2019).

Este trabajo tiene como propósito contribuir al conocimiento sobre los sistemas reproductivos sexuales de uno de los grupos de plantas neotropicales más diversos, la familia Bromeliaceae. Específicamente se contempla: (i) describir la biología y comportamiento floral, (ii) determinar el sistema reproductivo sexual y (iii) el sistema de polinización de cuatro especies del género *Werauhia* que coexisten de forma simpátrica en un bosque montano en Costa Rica. Conforme la tendencia descrita para los sistemas reproductivos en el género (ver Cap. I), se hipotetiza que las especies de estudio mostrarán una alta capacidad de auto-fertilización. Si se determinan que las especies se auto-fertilizan de manera tardía y sufren de limitación de polen, la auto-fertilización cumpliría una función de aseguramiento reproductivo.

## **Materiales y métodos**

### Sitio de estudio

El estudio se realizó entre los años 2018 y 2021 en la Zona Protectora Cerros de La Carpintera, una pequeña formación montañosa en el Valle Central de Costa Rica, con una elevación entre 1500 – 1900 m y situado entre las coordenadas geográficas 9° 52'– 9° 54" N y 83° 57' – 84° 00' O (INGCR, 1981). Esta área protegida se encuentra entre las provincias de Cartago (cantones de Cartago y La Unión) y San José (Curridabat y Desamparados). Comprende un área de 2396 hectáreas, de las cuales un 35 % corresponde a bosque primario y un 57 % bosque secundario (Sánchez et al., 2008). El promedio anual de precipitación es de 1839.2 mm y de temperatura 16.1 °C; se presenta una estación seca bien definida que va desde diciembre hasta abril (Ríos & Cascante-Marín, 2017). El clima presenta precipitaciones regulares entre mayo a diciembre y está definido por los vientos alisios que

ingresan por la depresión de La Palma y el valle del río Reventazón (Sánchez et al., 2008). Según la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1966) en las partes altas se presenta Bosque Húmedo y Muy Húmedo Montano (Sánchez et al., 2008). En el sitio se reconoce una gran variedad de especies de la familia Bromeliaceae (29 especies), entre los que destaca el género *Werauhia* por su abundancia y diversidad (8 especies) y cuyas poblaciones son importantes para la conservación de estas especies en el país (Sánchez et al., 2008).

### Especies de estudio

Se seleccionaron cuatro especies: *Werauhia ampla* (L. B. Sm.) J. R. Grant, *W. nephrolepis* (L. B. Sm. & Pittendr.) J. R. Grant, *W. pedicellata* (Mez & Wercklé) J. R. Grant, y *W. subsecunda* (Wittm.) J. R. Grant (Fig. 1). Estas especies muestran parte de la variedad floral del género ya que representan la sección *Werauhia* (*W. ampla* y *W. subsecunda*, de inflorescencias simples) y la sección *Jutleya* (*W. nephrolepis* y *W. pedicellata*, con inflorescencias compuestas), además de ser las más abundantes en el área de estudio (Cascante-Marín et al., 2017). El género *Werauhia* se distingue principalmente por poseer anthesis nocturna, coloración floral poco llamativa, pétalos con apéndices basales con el ápice dividido dactiloide y un estigma de forma cupular sin papilas (Grant, 1995). *Werauhia* se distribuye desde el Sur de México hasta Perú y el noreste de Brasil (Grant, 1995). En Costa Rica, la distribución de las especies de estudio comprende los bosques de zonas montañosas entre los 1000 – 2750 m y es común encontrarlas coexistiendo en varios lugares de La Cordillera Volcánica Central y de la Cordillera de Talamanca (Cerros de La Carpintera, Cerros de Escazú y Cerro Caraigres) (Morales, 2003). Especímenes testigo se encuentran depositados en el Herbario Luis Fournier O. (USJ) de la Universidad de Costa Rica (*W. ampla* USJ-100246, *W. nephrolepis* USJ-105232, *W. pedicellata* USJ-106525 y *W. subsecunda* USJ-111865).

### Biología floral

Con el propósito de describir la biología floral y su relación con el sistema de polinización se documentaron las siguientes características en una muestra de 73 plantas (17 *W. ampla*, 15 *W. nephrolepis*, 16 *W. pedicellata*, y 25 *W. subsecunda*): (i) el número de flores por inflorescencias, (ii) el despliegue floral (número de flores abiertas por día), (iii) la forma de la flor (campanulada o bilabiada), (iv) el color de las brácteas florales y brácteas primarias, (v) color del perianto, (vi) la

posición de anteras y el estigma en relación con la boca de la corola (la presencia de hercogamia), (vii) la emisión de aromas (prueba organoléptica), (viii) el momento del día en que ocurre la antesis, (ix) el momento y duración de la dehiscencia de las anteras y la receptividad del estigma y (x) la longevidad de las flores. La receptividad del estigma se determinó utilizando la prueba de peroxidasa (King, 1960; Kearns & Inouye, 1993), aplicando una pequeña gota de Peróxido de Hidrógeno al 3 % sobre el estigma, la presencia de un burbujeo (observado por medio de una lupa de mano 20X) producto de la reacción enzimática se consideró como indicación de la receptividad del estigma.

Se midió el volumen y concentración de néctar producido para flores de cada especie. Previo a la antesis cada flor se aisló para que ningún visitante consumiera el néctar (Shivanna & Tandon, 2014). El volumen acumulado se midió entre 2 – 4 horas después de la antesis utilizando tubos capilares de vidrio y la concentración de sucrosa se estimó en grados Brix utilizando un refractómetro de mano (Bellingham & Standley Ltd., Reino Unido).

#### Polinizadores y visitantes florales

Para identificar los visitantes florales y polinizadores potenciales se realizaron observaciones con cámaras trampa (Trophy cam, modelo 119476, Bushnell Corporation, Kansas, USA) durante los picos de floración de 2019, 2020 y 2021. Las cámaras se configuraron para que al activarse grabaran un video por un periodo de 15 segundos, seguido de un periodo de inactividad de 30 segundos. En cada planta focal, la cámara se retiró hasta que concluyó la floración de cada inflorescencia, aunque en algunos casos (0.05 %) el seguimiento fue parcial debido al agotamiento de la batería. Durante el análisis de los videos se registró: (i) el número de visitantes, (ii) la identidad del visitante (murciélago, colibrí, otros), (iii) hora del día de las visitas, (iv) duración de las visitas y comportamiento (contacto del cuerpo del visitante con las anteras o estigma de la flor) (Shivanna & Tandon, 2014). Para los visitantes más habituales se calculó la frecuencia de visitas por noche para cada especie, a partir del número total de visitas registradas entre el número total de noches monitoreadas para cada año.

Paralelamente y para corroborar el papel sugerido en la literatura de los murciélagos en la polinización de este grupo de bromelias, se colocaron 6 redes de niebla (dimensiones 9 × 2.5 y 3 × 2.5 m) entre las 16:00 a 21:30 horas, una o dos veces por semana entre los meses de enero – febrero 2020, en sitios considerados como “zonas de paso” por murciélagos (Wilson et al., 1996) y en donde



se encontraban individuos en floración de las especies de *Werauhia* estudiadas. El esfuerzo de muestreo se reportó como horas red ( $m^2 h^{-1}$ ), según lo propuesto por Straube & Bianconi (2002). La identificación de los murciélagos capturados se realizó aplicando las claves de York et al. (2019). El polen que cargaban los murciélagos capturados se extrajo con cinta adhesiva de la parte superior de la cabeza y el hocico (mejillas-nariz). Las muestras se analizaron en el laboratorio con un microscopio óptico de luz en donde se contaron y midieron los granos de polen contenidos en un área de  $2.5 \times 1.85$  cm de la cinta adhesiva unida a un porta-objetos. Para la identificación de las plantas se compararon las muestras extraídas de los murciélagos contra una colección de polen de referencia de las especies en floración y potencialmente polinizadas por murciélagos en el momento de la captura en el sitio de estudio.

### Sistemas reproductivos sexuales

Para determinar el sistema reproductivo de las especies, a partir de setiembre del 2018 a julio del 2019 se realizaron polinizaciones controladas en un total de 73 plantas (17 *W. ampla*, 15 *W. nephrolepis*, 16 *W. pedicellata* y 25 *W. subsecunda*). Los individuos se mantuvieron en un invernadero ubicado en el sitio de estudio en las instalaciones del Campo Escuela Iztarú de la Asociación de Guías y Scouts de Costa Rica, en la parte alta (ca. 1700 m) de los Cerros La Carpintera. Se realizaron seis tratamientos de polinizaciones controladas (Shivanna & Tandon, 2014): (i) polinización cruzada manual: previo a la anthesis las flores se emascularon (se removieron las anteras para evitar contaminación del polen propio) y durante la fase de receptividad inicial del estigma se colocó polen suficiente de una flor de otro individuo conespecífico, utilizando una espátula de metal y se aislaron; (ii) auto-polinización manual: se emascularon antes de la dehiscencia de las anteras, se removió el polen de la antera, se aplicó sobre el estigma de la misma flor y se aislaron; (iii) auto-polinización manual tardía: se trata del mismo procedimiento que una auto-polinización manual, pero en este caso la auto-polinización se realiza previo al momento de cierre de la flor (senescencia) con el fin de conocer si las flores aún son receptivas y el polen es viable; (iv) autopolinización autónoma: se aislaron las flores para evitar la visita de polinizadores y no se manipularon para determinar la capacidad de las flores de auto-polinizarse sin intervención de polinizadores; (v) agamospermia: se emascularon las flores antes de la dehiscencia de las anteras y se removió el estigma para evitar contaminación por polen, luego se aislaron de herbívoros u otros visitantes florales; (vi) polinización

natural: grupo de plantas aleatorias en el bosque sin manipulación y expuestas a polinizadores en condiciones naturales.

Para determinar el éxito de los tratamientos aplicados se utilizó como variable el desarrollo de frutos. Debido a que las especies de estudio presentan diferentes periodos de maduración de los frutos, en un periodo de 2-11 meses después de las manipulaciones se examinó el desarrollo de los frutos y se calculó la proporción de frutos producidos, antes de que ocurriera su dehiscencia y la dispersión natural de las semillas. El sistema reproductivo de cada especie se describió utilizando los siguientes índices:

*Índice de Auto-Compatibilidad (SCI)* (Lloyd & Schoen, 1992):

$$SCI = \left( \frac{\text{Proporción de frutos auto - polinización manual}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}} \right)$$

Donde SCI = 0, especie completamente auto-incompatible y SCI=1, especie completamente auto-compatible.

*Índice de Auto-Fertilidad (AFI)* (Lloyd & Schoen, 1992):

$$AFI = \left( \frac{\text{Proporción de frutos auto - polinización espontánea}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}} \right)$$

Donde AFI = 0, especie completamente autógena y AFI=1, especie completamente no autógena.

*Índice de Agamospermia (AGI)* (Ramírez & Brito, 1990).

$$AGI = \left( \frac{\text{Proporción de frutos polinización por agamospermia}}{\text{Proporción de frutos polinización cruzada manual}} \right)$$

Donde AGI = 0, especie completamente agamospérmica y AGI=1, especie completamente no agamospérmica.

### Evaluación de posibles efectos de endogamia

Para analizar la variación en la producción de semillas entre tratamientos para cada una de las especies, se contaron manualmente las semillas producidas por fruto por cada tratamiento. Para cada especie se aplicó un ANDEVA para determinar la significancia de las diferencias entre el promedio de semillas producidas por tratamiento. Cuando el resultado fue significativo se realizaron comparaciones *post-hoc* por pares con la prueba HSD de Tukey (Zar, 2010) entre tratamientos. Los análisis se realizaron con el programa estadístico R (R Core Team, 2019) con el paquete *multcomp* (Hothorn et al., 2008).

Para determinar si existen efectos negativos por depresión endogámica en la producción de semillas por auto-polinización se aplicó el *Índice por Depresión Endogámica* (IDI) propuesto por Charlesworth & Charlesworth (1987), el cual se calculó como:

$$IDI = 1 - \left( \frac{W_s}{W_o} \right)$$

Donde  $W_s$  corresponde al promedio de semillas por fruto producidas por auto-polinización manual y  $W_o$  al promedio de semillas por fruto por polinización cruzada manual. Un valor de  $IDI = 0$  indica ausencia de depresión endogámica y un valor de  $IDI = 1$  indica presencia de depresión endogámica.

Como parte de la determinación de diferencias fisiológicas en la progenie entre los tratamientos, se evaluó la viabilidad de las semillas comparando los porcentajes de germinación en condiciones de laboratorio. Se seleccionaron 480 semillas en 12 réplicas con 40 semillas por tratamiento (14 – 28 frutos de *W. ampla*, 14 – 26 de *W. nephrolepis*, 8 – 46 de *W. pedicellata* y 8 – 21 de *W. subsecunda*), en el mismo número de plantas por especie mencionado anteriormente. Cada grupo de semillas se germinó por separado en cajas de Petri sobre papel toalla húmedo. Se aplicó un fungicida comercial (Vitabax 40 WP) para reducir la probabilidad de contaminación por hongos. Dos veces por semana se determinó el número de semillas germinadas, es decir, aquellas que comiencen a desarrollar la radícula durante un período de un mes. Una vez que no se observaron semillas germinando, se calcularon los porcentajes de germinación (Shivanna & Tandon, 2014). Para determinar si existe diferencias significativas entre las semillas germinadas por cada tratamiento para

cada una de las especies, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 2010). Cuando se detectaron diferencias significativas se utilizaron comparaciones pareadas con la Prueba de Wilcoxon (Wilcoxon, 1945) para determinar cuáles categorías diferían significativamente entre sí. La significancia estadística por comparaciones múltiples se ajustó con la corrección de Bonferroni (Zar, 2010). Para determinar si existen efectos negativos por depresión endogámica en la germinación de semillas se aplicó el *Índice por depresión endogámica* (IDI) (Charlesworth & Charlesworth, 1987) explicado anteriormente utilizando el porcentaje promedio de germinación de cada tratamiento.

#### Aseguramiento reproductivo y grado de limitación de polen

Para estimar la contribución de la auto-fertilización como estrategia de aseguramiento reproductivo se comparó el éxito reproductivo de flores emasculadas y no-emasculadas en condiciones naturales de polinización, en dos años consecutivos. En el periodo enero – agosto del 2020, se determinó el grado de polinización natural en un total de 476 flores emasculadas de las 4 especies de estudio: 84 flores para *W. ampla* (22 plantas), 144 flores *W. nephrolepis* (20 plantas), 123 flores para *W. pedicellata* (13 plantas) y 123 flores para *W. subsecunda* (42 plantas). En un segundo periodo de estudio de enero – agosto del 2021, se repitió el experimento en un total de 975 flores emasculadas de las 4 especies de estudio: 202 flores para *W. ampla* (47 plantas), 298 flores *W. nephrolepis* (40 plantas), 302 flores para *W. pedicellata* (31 plantas) y 173 flores para *W. subsecunda* (53 plantas). Para aplicar el tratamiento de emasculación, durante el periodo de estudio se realizaron recorridos para localizar plantas con flores en pre-antesis, con botones florales inflados y a los cuales cuidadosamente se les separaron los pétalos con unas pinzas finas para remover las anteras antes de la dehiscencia y se dejaron luego expuestas para que recibieran visitas de sus vectores naturales de polinización (Schoen & Lloyd, 1992). Esta manipulación no altera la antesis normal de las flores en las especies estudiadas. Para el primer periodo de observación (2020), a manera de control en el mismo grupo de plantas utilizado anteriormente, se seleccionó de forma aleatoria una muestra total de 515 flores (*W. ampla* 99, *W. nephrolepis* 144, *W. pedicellata* 123, *W. subsecunda* 149) sin manipulación y que estuvieron expuestas a polinizadores. Para el segundo periodo de observación (2021) se seleccionaron de forma aleatoria en el mismo grupo de plantas, una muestra total de 975 flores (*W. ampla* 202, *W. nephrolepis* 298, *W. pedicellata* 302, *W. subsecunda* 173) sin manipulación y expuestas a polinizadores.

Para evaluar si existen diferencias significativas en el éxito reproductivo de los tratamientos natural/emasculado y natural/control, se aplicó para cada una de las especies un Modelo Lineal Generalizado (GLM) con una distribución binomial (frutos producidos versus frutos no producidos) utilizando la función “logit”. El modelo incluyó como variables predictoras (en paréntesis la categoría de referencia): “tratamiento” (‘natural/emasculado’), “año” (‘2020’) y la interacción “tratamiento x año”. El modelo se estimó con el paquete base del programa estadístico R (R Core Team, 2019). Se utilizó la prueba de Hosmer & Lemeshow (paquete *ResourceSelection* (Subhash et al., 2019)) para evaluar el ajuste del modelo logístico a los datos. Se estimaron los ‘odds ratio’ entre la categoría de referencia del modelo y las respectivas categorías de cada variable y los límites de confianza (95%). Cuando el límite de confianza del ‘odd ratio’ incluye el valor 1, indica que la categoría puede contribuir al modelo, pero no en distinguir entre categorías. Los datos se visualizaron con los paquetes *ggplot2* (Wickham, 2016) y *ggmosaic* (Jeppson et al., 2021) del programa estadístico R (R Core Team, 2019).

Para estimar la contribución proporcional de la auto-fertilización como estrategia de aseguramiento reproductivo con los datos del experimento anterior se aplicó la fórmula del *Índice de Aseguramiento Reproductivo* (RAI) (Schoen & Lloyd, 1992) para cada especie de estudio como:

$$RAI = \left( \frac{\text{Proporción de frutos natural (control)} - \text{Proporción de frutos natural emasculado}}{\text{Proporción de frutos natural (control)}} \right)$$

Donde valores de  $RAI \leq 0$ , indican que la auto-fertilización no contribuye como estrategia de aseguramiento reproductivo y valores de  $RAI > 0$ , indican la contribución de la auto-fertilización como estrategia de aseguramiento reproductivo.

Para determinar si existe diferencias significativas entre los porcentajes de frutos de los tratamientos natural/emasculado y polinización cruzada manual para cada una de las especies, se aplicó la prueba Z (Sprinthall, 2014) que compara dos proporciones y utiliza el valor estadístico del chi-cuadrado de Pearson (Snedecor & Cochran, 1989; Newcombe, 1998). Se utilizó como hipótesis alternativa que el éxito reproductivo del tratamiento “natural/emasculado” es menor que el tratamiento “polinización cruzada manual”. Para cuantificar la magnitud de limitación de polen a

nivel de producción de frutos que sufren las especies se aplicó la fórmula del *Índice de limitación de polen* (PLI) (Knight et al., 2005).

$$PLI = \ln \left( \frac{\text{Proporción de frutos tratamiento experimental}}{\text{Proporción de frutos tratamiento control}} \right)$$

El numerador representa el tratamiento experimental de suplemento de polen y corresponde a los datos de polinizaciones cruzadas manuales del estudio del sistema reproductivo. El denominador es el tratamiento control de polinización natural y en este caso corresponde a los datos del tratamiento de flores emasculadas en condiciones naturales utilizadas para la determinación del aseguramiento reproductivo. No se utilizaron las flores en condiciones naturales sin emasculas para eliminar el efecto de la auto-polinización automática.  $PLI = 0$  significa que no hay diferencias entre los tratamientos,  $PLI > 0$  indica limitación de polen, es decir, un menor éxito reproductivo en el tratamiento control y  $PLI < 0$ , implica ausencia de limitación de polen, es decir, un mayor éxito reproductivo del tratamiento control.

## Resultados

### Biología floral

La apertura de flores en *W. ampla*, *W. nephrolepis* y *W. subsecunda* ocurre de forma acropétala, mientras que en *W. pedicellata*, a pesar de que es común observar que primero abre las flores de las ramas más basales de la inflorescencia, la apertura de las flores no sigue un patrón definido. Las cuatro especies comparten varios rasgos florales (Cuadro 1) como: anthesis previa al crepúsculo entre las 15 – 18 horas (Fig. S1), la coloración poco llamativa de sus inflorescencias con brácteas y ejes florales verdes o pardos, una corola con tonos blancuzcos y una forma campanulada, excepto en *W. nephrolepis* que es marcadamente bilabiada (Fig. 1). La posición del estigma y anteras en la parte dorsal (superior) de su corola, excepto por *W. subsecunda* que presenta sus anteras separadas en dos tripletes en posición lateral, uno a cada lado de la corola al igual que el estigma (Fig. 1). Además, para las cuatro especies de *Werauhia* la concentración de néctar varió entre 3 – 18 %, con un volumen entre 1 – 82.5  $\mu\text{l}$  para las especies de flores pequeñas (*W. pedicellata* y *W. subsecunda*) y de 30 – 952.9  $\mu\text{l}$  para las especies con flores más grandes (*W. ampla* y *W. nephrolepis*) (Cuadro 1).

En general, las flores poseen el estigma y las anteras de similar longitud, aunque en *W. ampla* y *W. pedicellata* se documentó variación entre individuos, donde algunos mostraron hercogamia de aproximación (estigma con mayor longitud que las anteras) (Fig. 1). En *W. ampla* algunas flores presentan un tipo especial de hercogamia, la parte superior del estilo se curva y el estigma se posiciona en un extremo de la parte superior de la corola, por lo tanto, al momento de la senescencia, el estigma queda por fuera de la corola que se ha comprimido, sin tener contacto con las anteras. En cuanto a la separación temporal de la receptividad del estigma y anteras, las cuatro especies presentaron dicogamia de tipo protogínica e incompleta, la receptividad del estigma ocurre al principio de la vida de la flor, pero luego traslapa con la presentación del polen. La receptividad de los estigmas inicia desde que las flores están con los botones inflados en pre-antesis y la diferencia temporal entre las funciones femenina y masculina varía entre las especies hasta un máximo de 2 horas (Cuadro 1, Fig. S2). Se observó en las cuatro especies de *Werauhia* que, en la antesis tardía durante la senescencia floral, la corola pierde su turgencia y se cierra, eventualmente la constricción de esta hace que el estigma aún receptivo pueda hacer contacto con las anteras que tiene aún polen expuesto o con los pétalos ventrales donde se ha depositado el polen propio, resultando en auto-polinización (Fig. 1).

#### Polinizadores y visitantes florales

Para un total de 8 noches con un esfuerzo de muestreo de 675 m<sup>2</sup>/h, se capturaron 46 murciélagos. Entre ellos, la especie hematófaga *Desmodus rotundus* (4), un insectívoro del género *Lasiurus*, 31 frugívoros de los géneros: *Artibeus* (5), *Carollia* (4), *Dermanura* (6), *Platyrrhinis* (5), *Sturnira* (11) y seis individuos de murciélagos nectarívoros: 5 *Hylonycteris underwoodi* (Phyllostomidae) y un individuo de *Glossophaga soricina* (Glossophaginae). Solo se encontró polen en murciélagos nectarívoros (4 individuos), en la parte frontal de la cabeza y en el hocico. Se identificó polen de seis especies, principalmente perteneciente al género *Werauhia* y a las solanáceas epífitas: *Merinthopodium neuranthum* y *Schultesianthus leucanthus* (Cuadro S1).

Entre las cuatro especies de *Werauhia* se grabó un total de 454 noches y se observó un total de 1448 flores, en donde se registraron visitas de murciélagos para las cuatro especies, entre las 19:00 – 23:00 h y las 01:30 – 03:30 h (Cuadro 2). En las imágenes se observa el contacto entre la cabeza del murciélago y las flores en visitas que duran un máximo de 2 segundos (Fig. 2 y 3). En general, la

frecuencia de visitación por noche de los murciélagos fue bastante baja (0.07 visitas/noches) y varió en cada año observado. Para *W. ampla* y *W. subsecunda* se estimó una visitación máxima de 0.08 (año 2020) y 0.04 (año 2021) visitas/noche, respectivamente. Para *W. pedicellata* y *W. nephrolepis* la visitación máxima registrada en un año fue ligeramente mayor (0.21 y 0.24 visitas/noche, respectivamente). También se registraron visitas de colibrís del género *Lampornis* en flores de *W. ampla*, *W. nephrolepis* y *W. pedicellata* entre las 05:55 – 08:00 h y las 16:50 – 17:20 h. Las visitas de los colibrís a las flores de *W. pedicellata* se dan en horas de la tarde cuando apenas las flores están iniciando su antesis y las visitas en las horas de la mañana se dan cuando las flores ya están casi completamente cerradas. En el caso de *W. nephrolepis*, los colibrís visitaron las flores en horas de la mañana (05:45 – 06:30 h) cuando aún están abiertas, pero sin hacer contacto con las estructuras reproductivas. Se registraron visitas nocturnas de un ratón arborícola del género *Reithrodontomys* a las flores de un individuo de *W. ampla* y tres de *W. nephrolepis*. Dentro de una flor de *W. ampla* y en varias de *W. nephrolepis* fue posible observar abejas sin aguijón (*Trigona* sp., Apidae) y en flores de *W. ampla*, *W. nephrolepis* y *W. subsecunda* a veces se observaron adultos de moscas del género *Drosophila* sp. y en *W. subsecunda* larvas de estas moscas en los botones florales depredando las anteras. También se observaron insectos cucurliónidos (Coleoptera) y del orden Orthoptera depredando las corolas y anteras de las flores.

### Sistemas reproductivos sexuales

La producción de frutos en los tratamientos de auto-polinización y polinización cruzada manual fue alta (>75 %), excepto en *W. pedicellata* que obtuvo valores por debajo del 60 % para ambos tratamientos (Cuadro 3). Los porcentajes de producción de frutos por auto-polinización manual fue mayor que en los tratamientos de polinización cruzada manual para las especies *W. nephrolepis* (100% y 94.3%, respectivamente) y *W. subsecunda* (86.5 % y 76.5%, respectivamente). La producción de frutos por auto-polinización espontánea fue también alta en *W. subsecunda* y *W. nephrolepis* (>71.1 %), no obstante, *W. ampla* y *W. pedicellata* mostraron una capacidad menor de producir frutos sin intervención de polinizadores (43.3% y 31.1%, respectivamente). En condiciones naturales (control) la producción de frutos fue de moderada a relativamente alta para las cuatro especies (47.5% – 73.3%). El tratamiento de auto-polinización manual tardía solo se aplicó a la especie *W. ampla* porque sus flores permanecen abiertas por más tiempo y se obtuvo un 70 % frutos, similar al valor de auto-polinización manual (75%). En las otras tres especies el tratamiento anterior



no se aplicó debido a la difícil manipulación y fragilidad de las flores en momentos cercanos a la senescencia. En condiciones naturales, se observaron larvas de lepidópteros (Licaenidae) y curculiónidos devorando frutos en desarrollo de *W. pedicellata*.

El sistema reproductivo de las cuatro especies de *Werauhia* estudiadas se caracteriza por mostrar valores altos de auto-compatibilidad (SCI= 0.92 – 1.16), en conjunto con una capacidad de auto-fertilización que varía de intermedia a alta (AFI= 0.53 – 1.00). Lo anterior indica que son especies auto-compatibles y capaces de auto-polinizarse de forma automática. Para el tratamiento de agamosperma, solo *W. nephrolepis* y *W. pedicellata* formaron frutos (10.5 % y 3.6 %, respectivamente). Sin embargo, los resultados del AGI indican valores cercanos a 0, lo que sugiere ausencia de agamosperma significativa.

#### Efectos de endogamia

La producción de semillas por fruto entre los tratamientos de polinización para las especies *W. subsecunda* (F=1.43, df=3, p=0.245) y *W. nephrolepis* (F = 1.919, df = 3, p = 0.134) no mostraron diferencias significativas. Sin embargo, en *W. ampla* (F = 5.143, df = 4, p < 0.001) y *W. pedicellata* (F = 8.09, df = 3, p < 0.001) se encontraron diferencias significativas (Cuadro 4). En *W. ampla*, la auto-polinización espontánea y natural (control) mostraron una producción de semillas menor en relación con los tratamientos de auto-polinización y polinización cruzada manual. Por otra parte, *W. pedicellata* para el tratamiento auto-polinización espontánea la producción de semillas por fruto se redujo en casi un 50 % en relación con los demás tratamientos, indicando una menor eficiencia en la polinización autónoma. Los valores del *Índice de Depresión Endogamia* para producción de semillas fueron bajos y fluctuaron entre IDI = -0.10 – 0.15, indicando ausencia de efectos por depresión endogámica a nivel de desarrollo de semillas por fruto en las cuatro especies de *Werauhia* (Cuadro 4).

La capacidad de germinación de las semillas fue relativamente alta (> 80 %) y no difirió significativamente entre los tratamientos de polinización, excepto en *W. pedicellata* (H = 26.41, df = 3, p < 0.001; Fig. 4 y Cuadro S4). En esta especie las semillas obtenidas por auto-polinización manual mostraron una reducción importante en su capacidad de germinación, con respecto a semillas provenientes de polinización natural o polinización cruzada manual (Fig. 4). Los valores del *Índice*

*de endogamia* para germinación de semillas (porcentaje acumulado) fluctuaron entre  $IDI = -0.12 - 0.24$ , indicando que al nivel de germinación de semillas la depresión endogámica está ausente o es baja (Cuadro S4). En las cuatro especies estudiadas para los resultados de producción y germinación de semillas se encontró una adecuación ( $W_s/W_o$ ) de la progenie auto-fertilizada  $> 0.5$  en relación con la progenie exo-fertilizada.

#### Aseguramiento reproductivo y limitación de polen

Los resultados del GLM mostraron que la producción de frutos de flores emasculadas fue significativamente más bajas con respecto a flores en condiciones naturales de polinización (control) y que se mantuvo constante entre años, excepto en *W. pedicellata* (Cuadro 5). Los resultados del *Índice de Aseguramiento Reproductivo* (RAI) para los dos años mostraron valores altos para *W. ampla*, *W. nephrolepis* y *W. subsecunda* (RAI = 0.53 – 0.80), lo que indica una contribución importante al éxito reproductivo de las especies proporcionada por la autogamia (Fig. 5).

La producción de frutos por polinización cruzada natural (flores emasculadas) fue significativamente más bajo que el tratamiento control (flores de polinización cruzada manual) en todas las especies de *Werauhia* y en los dos periodos reproductivos estudiados (Fig. 6). Los valores del *Índice de Limitación de Polen* (PLI) a nivel de producción de frutos para los dos años de estudio oscilan entre  $PLI = 0.83 - 1.79$ , sugiriendo que las especies estudiadas sufren una fuerte limitación de polen (Cuadro S3).

### **Discusión**

#### Sistema de Polinización y Sistema Reproductivo

Las cuatro especies de *Werauhia* presentaron rasgos florales típicos del síndrome de polinización por murciélagos (quiropterofilia) y que se ha mencionado como característico del género (Utley, 1983; Grant, 1995). El periodo de capturas con red (enero–febrero) correspondió al periodo de floración de las especies *W. ampla* y *W. subsecunda*. Por lo anterior, la extracción de polen de *Werauhia* en la parte frontal de la cabeza de los murciélagos capturados se considera que pertenece a la especie *W. ampla* mientras que el polen extraído de la parte del hocico se asume corresponde a *W. subsecunda*,

ya que coincide con la posición dorsal y lateral de las estructuras reproductivas (anteras y estigma) de dichas especies (Fig. 3).

Todas las especies mostraron ser altamente auto-compatibles y capaces de auto-fertilizarse de forma autónoma. La auto-compatibilidad es una característica de los sistemas reproductivos que es predominante en Bromeliaceae (Matallana et al., 2010; Raduski et al., 2012) y especialmente de la subfamilia Tillandsioideae (Matallana et al., 2010; ver cap. I). Por otra parte, la auto-fertilización es un componente que se ha descrito en las pocas especies de *Werauhia* en los que se ha documentado sus sistemas reproductivos sexuales (Bush & Beach, 1995; Lasso & Ackerman, 2004; Cascante-Marín et al., 2005; Tschapka & Von Helversen, 2007; Aguilar-Rodríguez, Tschapka, et al., 2019). Se puede descartar que la producción de semillas del tratamiento de auto-polinización espontánea se debe a medios asexuales, ya que los resultados del AGI mostraron ausencia de agamosperma para dos de las especies y una agamosperma no significativa en *W. nephrolepis* y *W. pedicellata* que podría estar sujeta a algún error experimental. Normalmente, este es un componente que no se documenta con frecuencia en los sistemas reproductivos sexuales de la familia Bromeliaceae (ver cap. I) ni en la mayoría de las angiospermas (Richards et al., 2003; Hörandl & Hojsgaard, 2012), aunque ha sido reportado con frecuencia en las familias Asteraceae, Poaceae y Rosaceae (Richards et al., 2003; Wilcock & Neiland, 2002).

La dicogamia es otro rasgo floral que puede interferir con la capacidad de auto-fertilización (Lloyd, 1979; Lloyd & Webb, 1986). La protoginia presente en las especies de estudio y en otras especies del género (*W. bicolor*, *W. gladioliflora*, *W. haberi*, *W. notata*, *W. pittieri*, *W. viridiflora*, entre otras (A. Cascante-Marín, com. pers.)), es un tipo de separación temporal entre los órganos reproductivos que ha sido poco documentado en la familia Bromeliaceae (ver cap. I). Previamente, solo se ha reportado en *Araeococcus parviflorus* (Siquiera Filho, 2003) y varias especies de *Tillandsia* pertenecientes al subgénero *Tillandsia* (Gardner, 1982). La protoginia documentada en las especies de *Werauhia* es incompleta, es decir, que, aunque el estigma es el primero en ser receptivo posteriormente ocurre traslape con la presentación del polen. La protoginia incompleta puede fomentar la ocurrencia de una auto-polinización llamada “auto-fertilización tardía” (delayed selfing) (Lloyd, 1979; Lloyd & Webb, 1986; Goodwillie & Weber, 2018). En las especies de estudio, la auto-polinización tardía ocurre al final de la antesis floral y corresponde al tipo de autopolinización mecánica provocada por cierre de la corola que pone en contacto las anteras con polen disponible y

el estigma aún receptivo (Goodwillie & Weber, 2018). La auto-polinización automática en el momento de cierre de la corola por senescencia, ha sido documentado en la bromelia *Tillandsia recurvata* (Orozco-Ibarrola et al., 2015) y en varios géneros de diferentes órdenes de angiospermas (Goodwillie & Weber, 2018).

En las flores de las especies estudiadas, la posición posterior de las anteras con respecto al estigma y el estilo curvo en su parte distal (que facilita la recepción de polen del cuerpo del polinizador) restringe el contacto entre ambas estructuras. Además, la forma cupular del estigma que es característico del género (Grant, 1995), también podría limitar la deposición automática de polen cuando la flor está abierta ya que el área estigmática receptiva se localiza en el interior de cada lóbulo, a diferencia de otros tipos de estigmas descritos en la familia cuya superficie estigmática está expuesta (Brown & Gilmartin, 1989; Barfuss et al., 2016). Estas dos características florales evitan que ocurra la auto-polinización en el transcurso de vida de la flor y no interfiere con la oportunidad de la polinización cruzada. Los resultados del tratamiento de auto-fertilización tardía aplicado en *W. ampla* con una producción del 70 % de los frutos, demuestra que el estigma se encuentra receptivo y el polen es aún viable cerca de la senescencia floral permitiendo así la auto-fertilización tardía. A pesar de que en las otras tres especies no se aplicó este tratamiento, las características florales mencionadas anteriormente, además de la producción de frutos del tratamiento auto-polinización espontánea y las observaciones de cómo ocurre el contacto de las estructuras reproductivas en la senescencia cuando se comprime la corola (Fig. 1), permiten suponer que en estas especies ocurre la auto-fertilización tardía.

#### Limitación de polen y aseguramiento reproductivo

Las poblaciones de *Werauhia* estudiadas a pesar de tener un sistema especializado de polinización por quiropterofilia experimentan limitación de polen. Los sistemas de polinización especializados se consideran que fomentan el exo-cruzamiento, no obstante, es común encontrar que en algunas especies se desarrollen ciertas características que les permitan auto-fertilizarse (Fenster & Martén-Rodríguez, 2007). Esto se explica en parte porque en los sistemas de polinización que involucran polinizadores altamente específicos, la visitación es poco confiable y puede ser impredecible debido a la especificidad de los polinizadores, por lo tanto, tienen el riesgo de sufrir limitación de polen (Knight et al., 2005).

Los resultados de las capturas con redes y cámaras trampa sugieren que en la zona de estudio los murciélagos polinizadores tienen una baja densidad poblacional. Un estudio previo en el mismo sitio Durán (2012) y con un esfuerzo de muestreo mayor (21 060 m<sup>2</sup>/h en 39 noches), solamente documentó la captura de cinco individuos de *Hylonycteris underwoodi*, el principal polinizador de *Werauhia* en el sitio de estudio. Es probable que la densidad poblacional de los murciélagos nectarívoros de esta zona, se vea afectada por la pérdida de hábitat debido al avance de la frontera agropecuaria y el desarrollo urbano (Steffan-Dewenter & Tschardtke, 1999; Cunningham, 2000; Liu & Koptur, 2003; Knight et al., 2005). Por otra parte, McCain (2007) encontró que la abundancia y riqueza de especies de murciélagos es menor en hábitats montañosos a mayor elevación. La escasez de recursos alimenticios también puede determinar el mantenimiento de una población estable localmente y ejercer presión para la migración altitudinal de los murciélagos (Timm & LaVal, 2000). Las migraciones se han documentado en algunas especies de murciélagos nectarívoros (LaVal & Fitch, 1977; Fleming et al., 1993; Moreno-Valdez et al., 2000) como *Hylonycteris underwoodi* en Monteverde (Costa Rica), donde una alta abundancia de individuos entre mayo – octubre coincide con una mayor cantidad de recursos alimenticios (LaVal & Fitch, 1977), como la floración de la abundante bromelia epífita *W. gladioliflora* (Cascante-Marín et al., 2005; Tschapka & Von Helversen, 2007). Dicho comportamiento provoca la fluctuación en las poblaciones de polinizadores y aumenta el riesgo de las plantas a sufrir limitación de polen, particularmente en especies poco abundantes o cuya floración está aislada de otras plantas, como ocurre con *W. nephrolepis* (ver cap. III). Sin embargo, los movimientos migratorios solo pueden verificarse con un estudio demográfico de las poblaciones de murciélagos.

La limitación de polen también puede darse como resultado de una mala accesibilidad de las plantas. Un rasgo floral característico de las plantas con quiropterofilia es la accesibilidad de sus flores para los polinizadores, a través de estrategias como flores caulífloras, flagelifloría o flores dispuestas en partes externas del follaje (copas de árboles) para que sean accesibles para los murciélagos (Faegri & van der Pijl, 1979; Tschapka & Dressler, 2002; Fleming et al., 2009; Willmer, 2011). Sin embargo, en algunos casos se observaron plantas de *Werauhia* cuyo acceso estaba bloqueado por enredaderas y otras epífitas arbustivas creciendo en la cercanía o por las ramas del árbol hospedero, además de que algunas están creciendo en posiciones muy bajas en el sotobosque que puede impedir su localización y el vuelo de aproximación de los murciélagos a las flores.

Al considerar los resultados del experimento de emasculación de flores en el campo, tres de las especies de *Werauhia* presentaron un alto aporte de la auto-fertilización a la producción de frutos (RAI = 0.53 – 0.80) y que estaría contrarrestando la limitación de polen observada como resultado de un servicio bajo y ocasional de polinización, como se comprobó con la baja frecuencia de visitación registradas en las cámaras trampa. En este contexto de polinización inestable, la auto-fertilización representaría un mecanismo de aseguramiento reproductivo como lo sugirió Darwin (1876). La presencia de protoginia incompleta y un mecanismo de auto-fertilización tardía en las especies de estudio evitaría el desperdicio de polen y óvulos, contribuyendo a la eficiencia de la auto-fertilización como mecanismo de aseguramiento reproductivo (Lloyd, 1992; Herlihy & Eckert, 2002). Por otra parte, los resultados de producción y germinación de semillas no mostraron evidencia de depresión endogámica y la adecuación de la progenie por auto-fertilización superan el valor teórico ( $W_s/W_o > 0.5$ ) en relación con la progenie exo-cruzada, (Eckert et al., 2006) lo que favorecería el mantenimiento de la auto-fertilización en los sistemas reproductivos de este género de bromelias epífitas.

La especie *W. pedicellata* parece ser la excepción y aunque presentó una capacidad de auto-fertilización moderada (AFI = 0.54), el aporte de la auto-fertilización al aseguramiento reproductivo varió entre los dos periodos estudiados (2020 RAI= 0.18; 2021 RAI=0.62), presentando el valor de RAI más bajo entre las especies. Lo anterior probablemente está relacionado en parte con una mayor incidencia de hercogamia de aproximación (datos no mostrados) a nivel de individuos que reduce la capacidad de auto-fertilización. Además, aspectos no relacionados con la polinización como la herbivoría de partes reproductivas podría afectar negativamente el éxito reproductivo de *W. pedicellata*, que al parecer en el sitio de estudio es una especie muy susceptible al ataque de herbívoros a los frutos en desarrollo. Esta condición representó la pérdida de algunos individuos en el invernadero (5/21) y el campo (4/17). Algunos autores señalan que la baja producción de frutos también puede ser consecuencia del daño causado a las flores por el procedimiento de emasculación, que podría iniciar el proceso de senescencia de la flor o hacer a las flores menos atractivas para los polinizadores (Schoen & Lloyd, 1992; Eckert & Herlihy, 2004). No obstante, en todos los tratamientos de polinización que implicaron manipulación o emasculación no se detectó alguna afectación en el desarrollo normal de la antesis o el desarrollo de frutos.

Para la familia Bromeliaceae, anteriormente se ha propuesto que la auto-fertilización se mantiene en sus sistemas reproductivos como un mecanismo de aislamiento reproductivo entre especies (Wendt et al., 2002, 2008; Matallana et al., 2010). No obstante, el aislamiento reproductivo implica la presencia de un mecanismo de auto-polinización previa (“prior selfing”) para evitar la posibilidad de recibir polen inter-específico (Schoen & Lloyd, 1992; Leclerc-Potvin & Ritland, 1994; Brys et al., 2016), además de ausencia de limitación de polen (ya que la presencia de polen interespecífico implica la visita de polinizadores) y una nula inversión de recursos en atracción y recompensas para los polinizadores (Ornduff, 1969; Levin, 1971). En especies cuya fenología floral está temporalmente aislada de otros congéneres simpátricos, la autogamia no cumpliría una función de evitar el inter-cruzamiento; como ocurre en este estudio con *W. nephrolepis* que mostró una fenología floral desplazada (ver cap. III) y alta capacidad de auto-fertilizarse. Este escenario no justifica el mantenimiento de la auto-fertilización como mecanismo para evitar el cruzamiento interespecífico.

## **Conclusiones**

Las especies de *Werauhia* estudiadas a pesar de tener un sistema de polinización especializado como es la quiropterofilia tienen la capacidad de auto-fertilizarse, lo que sugiere la presencia de sistemas reproductivos mixtos. La evidencia sugiere fuertemente que la auto-fertilización actúa predominantemente como una estrategia de aseguramiento reproductivo en las especies estudiadas, tal como lo propuso Darwin (1876). Esta capacidad de auto-fertilización estaría mediada por la presencia de una protoginia incompleta y auto-polinización espontánea al momento de cierre de la corola al final de la senescencia de la flor. La auto-fertilización tardía probablemente sea una característica de los sistemas reproductivos sexuales extendida en el género *Werauhia* en poblaciones que tienen una baja frecuencia de visitación de sus polinizadores, debido quizás a perturbaciones ecológicas como la pérdida de hábitat que afectan las poblaciones de polinizadores (Wilcock & Neiland, 2002; Ashman et al., 2004; Knight et al., 2005; Brys & Jacquemyn, 2012; Cheptou, 2019; Frick et al., 2020). Debido a que en la familia Bromeliaceae son frecuentes los sistemas de polinización especializados (Krömer et al., 2008; Aguilar-Rodríguez, Krömer, et al., 2019; Michael Kessler et al., 2020), la limitación de polen podría ser una fuerza selectiva importante que explique la alta incidencia de auto-fertilización en los sistemas reproductivos de la familia, sin embargo, es

necesario contar con más estudios enfocados en este aspecto de la biología reproductiva de las especies.



**Literatura citada**

- Ackerman, J. (1986). Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana*, 9(1), 52–60.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., García-Franco, J., & Macswiney G. (2015). From dusk till dawn: Nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology*, 18(1), 37–45.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., & Tschapka, M. (2019). Bat pollination in Bromeliaceae. *Plant Ecology & Diversity*, 12(1), 1–19.
- Aguilar-Rodríguez, P., Tschapka, M., García-Franco, J., Krömer, T., & MacSwiney, M. C. (2019). Bromeliads going batty: pollinators partitioning among sympatric chiropterophilous Bromeliaceae. *AoB Plants*, 11(2), 1–19.
- Alboukadel, K. (2019). *ggpubr: “ggplot2” Based publication ready plots*. (R package version 0.2.1). <https://cran.r-project.org/package=ggpubr>
- Anderson, E. (1953). Introgressive hybridization. *Biological Reviews*, 28(3), 280–307. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1953.tb01379.x>
- Anderson, J. T., Inouye, D. W., McKinney, A. M., Colautti, R. I., & Mitchell-Olds, T. (2012). Phenotypic plasticity and adaptive evolution contribute to advancing flowering phenology in response to climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1743), 3843–3852. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1051>
- Araujo, A. C., Fischer, E. A., & Sazima, M. (1994). Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 17(2), 113–118.
- Arida, B., Scopece, G., Machado, R., Moraes, A., Forni-Martins, E., & Pinheiro, F. (2021). Reproductive barriers and fertility of two neotropical orchid species and their natural hybrid. *Evolutionary Ecology*, 35, 41–64. <https://doi.org/10.1007/s10682-020-10095-5>
- Arnold, M. (1997). *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press.
- Ashman, T., Knight, T., Steets, J., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, M., Mazer, S., Mitchell, R., Morgan, M., & Wilson, W. (2004). Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and Evolutionary Causes and Consequences. *Ecology*, 85(9), 2408–2421.
- Ashton, P. S., Givnish, T. J., & Appanah, S. (1988). Staggered Flowering in the Dipterocarpaceae:

- New Insights Into Floral Induction and the Evolution of Mast Fruiting in the Aseasonal Tropics. *The American Naturalist*, 132(1), 44–66.
- Augspurger, C. (1983). Phenology, Flowering Synchrony, and Fruit Set of Six Neotropical Shrubs. *Biotropica*, 15(4), 257–267.
- Baack, E., Melo, M. C., Rieseberg, L. H., & Ortiz-Barrientos, D. (2015). The origins of reproductive isolation in plants. *The New Phytologist*, 207(4), 968–984. <https://doi.org/10.2307/newphytologist.207.4.968>
- Baker, H. G. (1955). Self-compatibility and establishment after “Long-Distance” dispersal. *Evolution*, 9, 347–349.
- Baker, H. G. (1959). Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 24(1), 177–191. <https://doi.org/10.1101/SQB.1959.024.01.019>
- Barfuss, M. H. J., Samuel, R., Till, W., & Stuessy, T. F. (2005). Phylogenetic relationships in subfamily tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany*, 92(2), 337–351. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.337>
- Barfuss, M. H. J., Till, W., Leme, E. M. C., Pinzón, J. P., Manzanares, J. M., Halbritter, H., Samuel, R., & Brown, G. K. (2016). Taxonomic revision of bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. *Phytotaxa*, 279(1), 1–97. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.279.1.1>
- Barmantlo, S. H., Meirmans, P. G., Luijten, S. H., Triest, L., & Oostermeijer, J. G. B. (2018). Outbreeding depression and breeding system evolution in small, remnant populations of *Primula vulgaris*: consequences for genetic rescue. *Conservation Genetics*, 19(3), 545–554.
- Barrett, S. C. H. (2003). Mating strategies in flowering plants: the outcrossing – selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions Royal Society London B Biology Science*, 358(1434), 991–1004.
- Barrett, S. C. H. (2010). Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical Transactions Royal Society London Biology Science*, 365(1), 351–368.
- Barrett, S. C. H. (2013). The evolution of plant reproductive systems: How often are transitions irreversible? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1765), 1–9.
- Barrett, S. C. H. (2014). Evolution of mating systems: outcrossing versus selfing. In J. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 356–362). Princeton University Press.

- Barrios, Y., & Ramírez, N. (2008). Depresión por exogamia y biología reproductiva de *Nymphaea ampla* (Salisb.) DC. (Nymphaeaceae) DC. (Nymphaeaceae). *Acta Botánica Venezolana*, 31(2), 539–555.
- Bawa, K. S. (1974). Breeding Systems of Tree Species of a Lowland Tropical Community. *Evolution*, 28(1), 85.
- Bawa, K. S., Bullock, S. H., Perry, D. R., Coville, R. E., & Grayum, M. H. (1985). Reproductive Biology of Tropical Lowland Rain Forest Trees. II. Pollination Systems. *American Journal of Botany*, 72(3), 346–356.
- Becerra, J., & Lloyd, D. (1992). Competition-dependent abscission of self-pollinated flowers of *Phormium tenax* (Agavaceae): a second action of self-incompatibility at the whole flower level. *Evolution*, 46(2), 458–469.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press.
- Benzing, D. (2008). *Vascular epiphytes: general biology and related biota*. Cambridge University Press.
- Bianchi, M., Gibbs, P., Prado, D., & Vespignani, J. L. (2000). Studies on the breeding systems of understory species of a Chaco woodland in NE Argentina. *Flora*, 195, 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30992-1](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30992-1)
- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1986). Chromosomes of the Bromeliaceae. *Selbyana*, 9(1), 88–93.
- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1989). Stigma Types in Bromeliaceae—A Systematic Survey. *Systematic Botany*, 14(1), 110–132.
- Brys, R., Geens, B., Beeckman, T., & Jacquemyn, H. (2013). Differences in dichogamy and herkogamy contribute to higher selfing in contrasting environments in the annual *Blackstonia perfoliata* (Gentianaceae). *Annals of Botany*, 111(1), 651–661. <https://doi.org/10.1093/aob/mct031>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2011). Variation in the functioning of autonomous self-pollination, pollinator services and floral traits in three *Centaureum* species. *Annals of Botany*, 107(1), 917–925. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr032>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2012). Effects of human-mediated pollinator improvement on floral traits and mating patterns in a short an experimental approach. *Functional Ecology*, 26(1), 189–197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01923.x>
- Brys, R., van Cauwenberghe, J., & Jacquemyn, H. (2016). The importance of autonomous selfing in preventing hybridization in three closely related plant species. *Journal of Ecology*, 104(2), 601–

610. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12524>
- BSI. (2020, February 20). *Taxonomy*. <https://www.bsi.org/new/taxonomy/>
- Busch, J. W. (2005). The Evolution of Self-Compatibility in Geographically Peripheral Populations of *Leavenworthia alabamica* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, *92*(9), 1503–1512.
- Busch, J. W., & Delph, L. F. (2012). The relative importance of reproductive assurance and automatic selection as hypotheses for the evolution of self-fertilization. *Annals of Botany*, *109*(3), 553–562. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr219>
- Bush, S. P., & Beach, J. H. (1995). Breeding systems of epiphytes in a tropical montane wet forest. *Marie Selby Botanical Gardens Inc.*, *16*(2), 155–158.
- Buzato, S., Sazima, M., & Sazima, I. (2000). Hummingbird-Pollinated Floras at Three Atlantic Forest Sites. *Biotropica*, *32*(4b), 824–841.
- Cáceres, D. A., Schulte, K., Schmidt, M., & Zizka, G. (2013). Diversity and levels of endemism of the Bromeliaceae of Costa Rica – an updated checklist. *Phytokeys*, *29*, 17–61.
- Campbell, D., & Aldridge, G. (2006). Floral biology of hybrid zones. In L. Harder & S. Barret (Eds.), *Ecology and Evolution of flowers* (pp. 326–353). Oxford University Press.
- Campbell, D., Waser, N. M., & Pederson, G. T. (2002). Predicting patterns of mating and potential hybridization from pollinator behavior. *The American Naturalist*, *159*(5), 438–450.
- Campbell, M., McKenzie, J. E., Sowden, A., Katikireddi, S. V., Brennan, S. E., Ellis, S., Hartmann-Boyce, J., Ryan, R., Shepperd, S., Thomas, J., Welch, V., & Thomson, H. (2020). Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: Reporting guideline. *BMJ*, *368*, 1–5.
- Cascante-Marín, A., de Jong, M., Borg, E. D., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2006). Reproductive Strategies and Colonizing Ability of Two Sympatric Epiphytic Bromeliads in a Tropical Premontane Area. *International Journal of Plant Sciences*, *167*(6), 1187–1195.
- Cascante-Marín, A., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2005). Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Premontane tropical forest. *Plant Biology*, *7*, 203–209. <https://doi.org/10.1055/s-2005-837584>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Alvarado, R. (2017). Association between rainfall seasonality and the flowering of epiphytic plants in a Neotropical montane forest. *Biotropica*, *49*(6), 912–920. <https://doi.org/10.1111/btp.12478>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., Madrigal, R., & Fuchs, E. J. (2019). Genetic diversity and reproductive biology of the dioecious and epiphytic bromeliad *Aechmea mariae-reginae*

- (Bromeliaceae) in Costa Rica: Implications for its conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192(4), 773–786.
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Morales, J. (2019). First description of the nocturnal flowers of the little-known *Werauhia haberi* (Tillandsioideae) and notes about its natural history. *Journal of the Bromeliad Society International*, 69(1), 1–9.
- Chaparro, H. (2005). Biología reproductiva de la bromelia terrestre *Puya trianae* en el Parque Chingaza. In *Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la Cordillera Oriental de Colombia*. (pp. 273–286). Universidad Nacional de Colombia.
- Charlesworth, D., & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 18, 18(1), 237–268.
- Cheptou, P. O. (2019). Does the evolution of self-fertilization rescue populations or increase the risk of extinction? *Annals of Botany*, 123(2), 337–345.
- Christie, K., & Strauss, S. Y. (2018). Along the speciation continuum: Quantifying intrinsic and extrinsic isolating barriers across five million years of evolutionary divergence in California jewelflowers. *Evolution*, 72(5), 1063–1079. <https://doi.org/10.1111/evo.13477>
- Covas, G., & Schnack, B. (1945). El valor taxonómico de la relación: " Longitud del pistilo : Volumen del grano de polen ". *Darwiana*, 7(1), 80–90.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1989). Patterns of Speciation in *Drosophila*. *Evolution*, 43(2), 362–381.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1998). Evolution of Biological Diversity: From Population Differentiation to Speculation. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 353(1366), 287–305.
- Cruden, R. (2009). Pollen grain size, stigma depth, and style length: the relationships revisited. *Plant Systematic Evolution*, 278(1), 223–238. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0142-8>
- Cruden, R., & Lyon, D. (1989). Facultative xenogamy: examination of a mixed mating system. In J. Bock, Y. Linhasrt, G. Stebbins, & C. Turner (Eds.), *The evolutionary ecology of plants*. CRC Press.
- Cruden, R., & Miller-Ward, S. (1981). Pollen-Ovule Ratio, Pollen Size, And The Ratio Of Stigmatic Area To The Pollen-Bearing Area Of The Pollinator: An Hypothesis. *Evolution*, 35(5), 964–974. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1981.tb04962.x>
- Cunningham, S. A. (2000). Depressed Pollination in Habitat Fragments Causes Low Fruit Set. *Proceedings: Biological Sciences*, 267(1448), 1149–1152.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life: Vol. 1859*. John Murray,.

- Darwin, C. (1876). *The Effects of Cross and Self-fertilisation in the Vegetable Kingdom* (Second). John Murray, Albemarle Street.
- Darwin, C. (1877). *The different forms of flowers of plants of the same species*. John Murray, Albemarle Street.
- De Sousa, L., Wendt, T., Brown, G., Tuthill, D., & Evans, T. (2007). Monophyly and Phylogenetic Relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) Based on Morphology and Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*, 32(2), 264–270.
- Delpino, F. (1867). Sull'opera, la distribuzione dei sessi nelle piante e la legge che osta alla perennità della fecondazione consanguinea. *Atti Della Società Italiana Di Scienze Naturali*, 10(1), 272–303.
- Dressler, R. (1990). *The Orchids: natural history and classification*. Harvard University Press.
- Durán, F. J. (2013). Murciélagos (Chiroptera) y ratones silvestres (Rodentia) de la zona Protectora Cerros de La Carpintera, Costa Rica. *Brenesia*, 79(1), 53–57.
- Eckert, C. G., & Herlihy, C. R. (2004). Using a cost-benefit approach to understand the evolution of self-fertilization in plants: The perplexing case of *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). *Plant Species Biology*, 19(3), 159–173. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2004.00112.x>
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Dart, S. (2006). Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. In L. Harder & S. Barrett (Eds.), *Ecology and Evolution of Flowers* (First, pp. 183–203). Oxford University Press.
- Egli, D. B., Hamman, B., & Rucker, M. (2010). Seed Vigor and Uniformity of Seedling Emergence in Soybean. *Seed Technology*, 32(2), 87–95.
- Elzinga, J. A., Atlan, A., Biere, A., Gigord, L., Weis, A. E., & Bernasconi, G. (2007). Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(8), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.05.006>
- Erdtman, G., & Pragłowski, J. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). A note of pollen morphology. *Flora Neotropica*, 14(1), 28–39.
- Faegri, K., & van der Pijl, L. (1979). *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon.
- Fenster, C. B., & Martén-Rodríguez, S. (2007). Reproductive assurance and the evolution of pollination specialization. *International Journal of Plant Sciences*, 168(2), 215–228.
- Ferrer, M. M., Good-Avila, S. V., Montaña, C., Domínguez, C. A., & Eguiarte, L. E. (2009). Effect of variation in self-incompatibility on pollen limitation and inbreeding depression in *Flourensia cernua* (Asteraceae) scrubs of contrasting density. *Annals of Botany*, 103(7), 1077–1089.

- Ferrer, M. M., & Good, S. V. (2012). Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. *Annals of Botany*, *110*(3), 535–553.
- Fleming, T., Geiselman, C., & Kress, W. (2009). The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, *104*(1), 1017–1043.
- Fleming, T., Nuñez, R., Da Silveira, L., & Sternberg, L. (1993). Seasonal Changes in the Diets of Migrant and Non-Migrant Nectarivorous Bats as Revealed by Carbon Stable Isotope Analysis. *Oecologia*, *94*(1), 72–75.
- Frankie, G., Baker, H., & Opler, P. (1974). Tropical Plant Phenology: Applications for studies in community ecology. In H. Lieth (Ed.), *Phenology and Seasonality Modeling. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 8. (pp. 287–298). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8_24)
- Frick, W. F., Kingston, T., & Flanders, J. (2020). A review of the major threats and challenges to global bat conservation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1469*(1), 5–25.
- Fryxell, P. A. (1957). Mode of Reproduction of Higher Plants. *The Botanical Review*, 135–233.
- Gardner, C. (1982). *A systematic study of tillandsia subgenus tillandsia*. Universidad Texas A & M.
- Gardner, C. (1984). Natural hybridization in “Tillandsia” subgenus “Tillandsia.” *Selbyana*, *7*(2), 380–393.
- Gentry, A., & Dodson, C. (1987). Diversity and Biogeography of Neotropical Vascular Epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *74*(2), 205–233.
- Gitaí, J., Horres, R., & Benko-Iseppon, A. M. (2005). Chromosomal features and evolution of Bromeliaceae. *Plant Systematics and Evolution*, *253*(1–4), 65–80. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0306-8>
- Givnish, T. J. (2010). Ecology of plant speciation. *Taxon*, *59*(5), 1326–1366.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Andrew, J., Smith, C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2014). Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *71*(1), 55–78.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Smith, J. A. C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid

- phylogeny. *American Journal of Botany*, 98(5), 872–895.
- Givnish, T. J., Millam, K. C., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2007). Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography of Bromeliaceae Inferred from *ndhF* Sequence Data. *Aliso*, 23(1).
- Godoy, D. R. F. M., Lenzi, M., Ferreira, B. H. D. S., Da Silva, L. V., Zanella, C. M., & Paggi, G. M. (2018). High genetic diversity and moderate genetic structure in the self-incompatible, clonal *Bromelia hieronymi* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 187(4), 672–688.
- Goetze, M., Zanella, C. M., Palma-Silva, C., Büttow, M. V., & Bered, F. (2017). Incomplete lineage sorting and hybridization in the evolutionary history of closely related, endemic yellow-flowered *Aechmea* species of subgenus *Orgiesia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, 104(7), 1073–1087.
- Gomes, A. C., Ferreira, B. H. S., Souza, C. S., Arakaki, L. M. M., Aoki, C., Paggi, G. M., & Sigrist, M. R. (2020). Adaptive response of extreme epiphyte *Tillandsia* species (Bromeliaceae) is demonstrated by different sexual reproduction strategies in the Brazilian Chaco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192, 840–854.
- Gomulkiewicz, R., & Holt, R. D. (1995). When does Evolution by Natural Selection Prevent Extinction? *Evolution*, 49(1), 201–207.
- González, A. V., & Pérez, F. (2010). Pollen Limitation and Reproductive Assurance in the Flora of the Coastal Atacama Desert. *International Journal of Plant Sciences*, 171(6), 607–6014. <https://doi.org/10.1086/653135>
- Goodwillie, C., Kalisz, S., & Eckert, C. (2005). The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(1), 47–79.
- Goodwillie, C., & Weber, J. (2018). The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany*, 105(4), 641–655. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1045>
- Gouda, E., & Butcher, D. (2021). *A List of Accepted Bromeliaceae Names*. University Botanic Gardens, Utrecht.
- Grant, J. (1995). Bromelienstudien. The resurrection of *Alcantarea* and *Werauhia*, a new genus. *Tropische Und Subtropische Pflazenwelt*, 91, 8–57.
- Grant, V. (1949). Pollination Systems as Isolating Mechanisms in Angiosperms. *Evolution*, 3(1), 82–97.
- Grant, V. (1981). *Plant speciation*. Columbia University Press.



- Grant, V. (1993). Effects of Hybridization and Selection on Floral Isolation. *National Academy of Sciences*, 90(3), 990–993.
- Grant, V. (1994a). Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(1), 3–10.
- Grant, V. (1994b). Mechanical and Ethological Isolation Between *Pedicularis groenlandica* and *P. attollens* (Scrophulariaceae). *Biologisches Zentralblatt*, 113, 43–51.
- Harrison, R. (2014). Species and Speciation. In J. B. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 489–495). Princeton University Press.
- Herlihy, C. R., & Eckert, C. G. (2002). Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. *Nature*, 416(6878), 320–323. <https://doi.org/10.1038/416320a>
- Hmeljevski, K. V., Wolowski, M., Forzza, R. C., & Freitas, L. (2017). High outcrossing rates and short-distance pollination in a species restricted to granitic inselbergs. *Australian Journal of Botany*, 65(4), 315–326.
- Holdridge, L. R. (1966). The life zone system. *Adansonia*, 6(2), 199–203.
- Hopkins, R. (2013). Reinforcement in plants. *New Phytologist*, 197(4), 1095–1103. <https://doi.org/10.1111/nph.12119>
- Hörandl, E., & Hojsgaard, D. (2012). The evolution of apomixis in angiosperms: A reappraisal. *Plant Biosystems*, 146(3), 681–693. <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.716795>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346–363.
- INGCR. (1981). *Hoja cartografica Istarú 3445. Proyección Lambert*. Instituto Geográfico Nacional. Ministerio de Obras Públicas y Transporte.
- Jabaily, R. S., & Sytsma, K. J. (2013). Historical biogeography and life-history evolution of Andean *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171, 201–224.
- Jackson, D., & White, I. R. (2018). When should meta-analysis avoid making hidden normality assumptions? *Biometrical Journal*, 60(6), 1040–1058.
- Jain, S. K. (1976). The Evolution of Inbreeding in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 7(1), 469–495.
- Jeppson, H., Hofmann, H., & Cook, D. (2021). *ggmosaic: Mosaic Plots in the “ggplot2” Framework. R package version 0.3.3.*
- Jones, N. T., Husband, B. C., & MacDougall, A. S. (2013). Reproductive system of a mixed-mating plant responds to climate perturbation by increased selfing. *Proceedings of the Royal Society B*:

- Biological Sciences*, 280(1766), 1–6. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1336>
- Jürgens, A., Witt, T., & Gottsberger, G. (2012). Pollen grain size variation in Caryophylloideae: A mixed strategy for pollen deposition along styles with long stigmatic areas? *Plant Systematics and Evolution*, 298(1), 9–24.
- Kaehler, M., Varassin, I., & Goldenberg, R. (2005). Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 28(2), 219–228.
- Kalisz, S., Vogler, D. W., & Hanley, K. M. (2004). Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature*, 430(1), 884–446.
- Kay, K. (2006). Reproductive Isolation between Two Closely Related Hummingbird-Pollinated Neotropical Gingers. *Evolution*, 60(3), 538–552.
- Kearns, C., & Inouye, D. (1993). Techniques for pollination biologists. In *Trends in Ecology & Evolution* (Vol. 9, Issue 4). University Press of Colorado. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90195-3](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90195-3)
- Kessler, M., & Krömer, T. (2000). Patterns and Ecological Correlates of Pollination Modes Among Bromeliad Communities of Andean Forests in Bolivia. *Plant Biology*, 2(6), 659–669.
- Kessler, Michael, Abrahamczyk, S., & Krömer, T. (2020). The role of hummingbirds in the evolution and diversification of Bromeliaceae: unsupported claims and untested hypotheses. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192(4), 592–608.
- King, J. (1960). The peroxidase reaction as an indicator of pollen viability. *Stain Technology*, 36(225227), 109.
- Knight, T., Steets, J., Vamosi, J., Mazer, S., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, J., Mitchell, M., & Ashman, T. (2005). Pollen limitation of plant reproduction: patterns and process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 36(1), 467–497.
- Krömer, T., Kessler, M., & Herzog, S. (2006). Distribution and Flowering Ecology of Bromeliads along Two Climatically Contrasting Elevational Transects in the Bolivian Andes 1. *Biotropica*, 38(2), 183–195.
- Krömer, T., Kessler, M., Lohaus, G., & Schmidt-Lebuhn, A. N. (2008). Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biology*, 10(4), 502–511.
- Lande, R., & Schemske, D. W. (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. *Evolution*, 39(1), 24–40. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb04077.x>

- Lasso, E., & Ackerman, J. (2004). The flexible breeding system of *Werauhia sintenisii*, a cloud forest bromeliad from Puerto Rico. *Biotropica*, *36*(3), 414–417.
- LaVal, R., & Fitch, H. (1977). Structure, movements and reproduction in three Costa Rican bat communities. *Museum of Natural History of The University of Kansas*, *69*(1), 1–28.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, *25*(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Leal, R., Moreira, M., Pinto, A., Ferreira, J., Rodriguez-Girones, M., & Freitas, L. (2020). Temporal changes in the most effective pollinator of a bromeliad pollinated by bees and hummingbirds. *PeerJ*, *8*, 1–22.
- Leclerc-Potvin, C., & Ritland, K. (1994). Modes of Self-Fertilization in *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae): A Field Experiment. *American Journal of Botany*, *81*(2), 199–205.
- Lenzi, M., Matos, J. Z. de, & Orth, A. I. (2006). Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, *20*(2), 487–500.
- Levin, D. (1971). The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon*, *20*(1), 91–113.
- Levin, D. (1972). Competition for pollinator service: a stimulus for the evolution of autogamy. *Evolution*, *26*(4), 668–669.
- Levin, D. (2006). Flowering Phenology in Relation to Adaptive Radiation. *Systematic Botany*, *31*(2), 239–246.
- Levin, D., & Anderson, W. (1970). Competition for Pollinators between Simultaneously Flowering Species. *Source: The American Naturalist*, *104*(939), 455–467.
- Lewis, D., & Crowe, L. (1958). Unilateral interespecific incompatibility in flowering plants. *Heredity*, *12*, 233–256.
- Liang, H., Ren, Z.-X., Tao, Z.-B., Zhao, Y.-H., Bernhardt, P., Li, D.-Z., & Wang, H. (2018). Impact of pre- and post-pollination barriers on pollen transfer and reproductive isolation among three sympatric *Pedicularis* (Orobanchaceae) species. *Plant Biology*, *20*(4), 662–673. <https://doi.org/10.1111/plb.12833>
- Liberati, A., Altman, D., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P., Ioannidis, J., Clarke, M., Devereaux, P., Kleijnen, J., & Moher, D. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Medicine*, *6*(7), e1000100.

- Liu, H., & Koptur, S. (2003). Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban-wildland interface. *American Journal of Botany*, 90(8), 1180–1187. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.8.1180>
- Lloyd, D. (1965). Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, 1(195), 3–134.
- Lloyd, D. (1979). Some Reproductive Factors Affecting the Selection of Self-Fertilization in Plants. *The American Naturalist*, 113(1), 67–79.
- Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . II . The Selection of Self- Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 370–380.
- Lloyd, D., & Schoen, D. (1992). Self- and cross-fertilization in plants . I . Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 358–369.
- Lloyd, D., & Webb, C. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24(1), 135–162.
- Lowry, D. B., Modliszewski, J. L., Wright, K. M., Wu, C. A., & Willis, J. H. (2008). Review. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1506), 3009–3021. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0064>
- Lumer, C. (1980). Rodent pollination of *Blakea* ( Melastomataceae) in a Costa Rican cloud forest. *Brittonia*, 32(4), 512–517.
- Lussu, M., De Agostini, A., Marignani, M., Cogoni, A., & Cortis, P. (2018). *Ophrys annae* and *Ophrys chestermanii*: an impossible love between two orchid sister species. *Nordic Journal of Botany*, 36(10), 1–8. <https://doi.org/10.1111/njb.01798>
- Lynch, M. (1991). The Genetic Interpretation of Inbreeding Depression and Outbreeding Depression. *Evolution*, 45(3), 622–629.
- Machado, C. G., & Semir, J. (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.
- Mallick, S. A. (2001). Faultative dichogamy and reproductive assurance in partially protandrous plants. *Oikos*, 95(3), 533–536.
- Marín Gómez, O. (2014). *Ecología de la polinización y mecanismos de coexistencia del ensamble de columnnea (Gesneriaceae) en la reserva natural Ñambí, Nariño-Colombia*. Universidad

Nacional de Colombia.

- Marques, A. R., & Lemos, J. P. (2008). Fenologia reprodutiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22(2), 417–424.
- Marquis, R. J. (1988). Phenological Variation in the Neotropical Understory Shrub Piper Arielianum: Causes and Consequences. *Ecology*, 69(5), 1552–1565.
- Martén-Rodríguez, S., & Fenster, C. B. (2010). Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesneriaceae: a specialists vs generalist comparison. *Ecology*, 91(1), 155–165.
- Martin, N., & Willis, J. (2007). Ecological Divergence Associated with Mating System Causes Nearly Complete Reproductive Isolation between Sympatric Mimulus Species on JSTOR. *Evolution*, 61(1), 68–82.
- Matallana, G., Eugênio Oliveira, P., da Silva, P., & Wendt, T. (2016). Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(3), 521–531.
- Matallana, G., Godinho, M., Guilherme, F., Belisario, M., Coser, T., & Wendt, T. (2010). Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Systematics and Evolution*, 289(1–2), 57–65.
- McCain, C. M. (2007). Could temperature and water availability drive elevational species richness patterns? A global case study for bats. *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00263.x>
- Mcneilly, T., & Antonovicsf, J. (1968). Evolution in closely adjacent plant populations iv. Barriers to gene flow. *Heredity*, 23, 205–218. <https://doi.org/10.1038/hdy.1968.29>
- McWilliams, E. (1974). Chromosome number and evolution. In L. Smith & R. J. Downs (Eds.), *Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica*. (pp. 35–39).
- Miller, J. S., & Kostyun, J. L. (2011). Functional gametophytic self-incompatibility in a peripheral population of *Solanum peruvianum* (Solanaceae). *Heredity*, 107(1), 30–39. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.151>
- Misiewicz, T., Simmons, T., & Fine, P. (2020). The contribution of multiple barriers to reproduction between edaphically divergent lineages in the Amazonian tree *Protium subserratum* (Burseraceae). *Ecology and Evolution*, 10(13), 6646–6663. <https://doi.org/10.1002/ece3.6396>
- Moeller, D. (2006). Geographic Structure of Pollinator Communities , Reproductive Assurance , and the Evolution of Self-Pollination. *Ecology*, 87(6), 1510–1522.
- Moeller, D., & Geber, M. (2005). Ecological context of the evolution of self-pollination in *Clarkia*

- xantiana: Population size, plant communities and reproductive assurance. *Evolution*, 59(4), 786–799. <https://doi.org/10.1554/04-656>
- Mondragón, D., Valverde, T., & Hernández-Apolinar, M. (2015). Population ecology of epiphytic angiosperms: A review. *Tropical Ecology*, 56(1), 1–39.
- Morales, J. F. (2003). Bromeliaceae. In B. Hammel, M. Grayum, C. Herrera, & N. Zamora (Eds.), *Manual de Plantas de Costa Rica Volumen II. Gimnospermas y Monocotiledóneas (Agavaceae-Musaceae)* (Vol. 92, pp. 297–375). Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden. 92: 297-375.
- Moreira-Hernández, J., & Muchhala, N. (2019). Importance of Pollinator-Mediated Interspecific Pollen Transfer for Angiosperm Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50(1), 191–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024804>
- Moreno-Valdez, A., Grant, W., & Honeycutt, R. (2000). A simulation model of Mexican long-nosed bat (*Leptonycteris nivalis*) migration. *Ecological Modelling*, 134(1), 117–127.
- Mosquin, T. (1971). Competition for pollinators as a stimulus for the evolution of flowering time. *Wiley on Behalf Nordic Society Oikos*, 22(3), 398–402.
- Moyle, L. C., Olson, M. S., & Tiffin, P. (2004). Patterns of Reproductive Isolation in Three Angiosperm Genera. *Evolution*, 58(6), 1195–1208.
- Muchhala, N. (2008). Functional Significance of Interspecific Variation in *Burmeistera* Flower Morphology: Evidence from Nectar Bat Captures in Ecuador. *Biotropica*, 40(3), 332–337.
- Muchhala, N., & Potts, M. (2007). Character Displacement among Bat-Pollinated Flowers of the Genus *Burmeistera*: Analysis of Mechanism, Process and Pattern. *Proceedings of The Royal Society Biological Sciences*, 274(1626), 2731–2737. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0670>
- Munguía-Rosas, M. A., & Jácome-Flores, M. E. (2020). Reproductive isolation between wild and domesticated chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) in sympatry. *Plant Biology*, 22(5), 932–938. <https://doi.org/10.1111/plb.13140>
- Neal, P., & Anderson, G. (2005). Are “mating systems” “breeding systems” of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? or is it the other way around? *Plant Systematic Evolution*, 250(1), 173–185.
- Neri, J., Wendt, T., & Palma-Silva, C. (2017). Natural hybridization and genetic and morphological variation between two epiphytic bromeliads. *AoB PLANTS*, 10(1), 1–16.
- Newcombe, R. G. (1998). Two-sided confidence intervals for the single proportion: Comparison of seven methods. *Statistics in Medicine*, 17(8), 857–872. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-)

0258(19980430)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E

- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, *120*(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Ornduff, R. (1969). Reproductive Biology in Relation to Systematics. *Taxon*, *18*(2), 121–133.
- Orozco-Ibarrola, O. A., Flores-Hernández, P. S., Victoriano-Romero, E., Corona-López, A. M., & Flores-Palacios, A. (2015). Are breeding system and florivory associated with the abundance of *Tillandsia* species (Bromeliaceae)? *Botanical Journal of the Linnean Society*, *177*(1), 50–65.
- Ortiz, M., Talavera, S., García-Castaño, J., Tremersberger, K., Stuessy, T., Ballao, F., & Casimiro-Soriguer, R. (2006). Self-Incompatibility and Floral Parameters in *Hypochaeris* sect. *Hypochaeris* (Asteraceae) on JSTOR. *American Journal of Botany*, *93*(2), 234–244.
- Ostenfeld, C. H. (1929). Genetic studies in *Polemonium* II. Experiments with crosses of *P. mexicanum* Cerv. and *P. pauciflorum* Wats. *Hereditas*, *12*(1), 33–40.
- Parton, E., Vervaeke, I., Deroose, R., & De Proft, M. . (2001). Interspecific anf intergeneric fertilization barriers in Bromeliaceae. *Acta Horticulturae*, *552*, 43–53.
- Pool-Chalé, M., Ramírez-Morillo, I., Carnevali Fernández-Concha, G., & Hornung-Leoni, C. T. (2018). Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). *Plant Biology*, *20*(1), 113–120.
- Primack, R. B. (1985). Patterns of Flowering Phenology in Communities, Populations, Individuals, and Single Flowers. In J. White (Ed.), *The Population Structure of Vegetation. Handbook of Vegetation Science: Vol. Vol.3* (pp. 571–593). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4\\_24](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4_24)
- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, *125*, 21–30.
- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/>
- Raduski, A. R., Haney, E. B., & Igi, B. (2012). The expression of self-incompatibility in angiosperms is bimodal. *Evolution*, *66*(4), 1275–1283.
- Ramírez-Aguirre, E., Martén-Rodríguez, S., Quesada-Avila, G., Quesada, M., Martínez-Díaz, Y., Oyama, K., & Espinosa-García, F. J. (2019). Reproductive isolation among three sympatric *Achimenes* species: pre- and post-pollination components. *American Journal of Botany*, *106*(7), 1021–1031. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1324>

- Ramírez, N., & Brito, Y. (1990). Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan llanos. *American Journal of Botany*, *77*(10), 1260–1271.
- Ramírez, N., & Hokche, O. (2019). Outbreeding and inbreeding strategies in herbaceous-shrubby communities in the Venezuelan Gran Sabana Plateau. *AoB PLANTS*, *11*(4), 1–15.
- Ramírez, N., & Nassar, J. (2017). Breeding systems in Angiosperms : novel inferences from a new analytical approach. *Plant Systematics and Evolution*, *303*(1), 119–137.
- Ramsey, J., Bradshaw, H., & Schemske, D. (2003). Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution*, *57*(7), 1520–1534. <https://www-jstor-org.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/stable/pdf/3448754.pdf>
- Rathcke, B., & Lacey, E. (1985). Phenological Patterns of Terrestrial Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *16*, 179–214.
- Raven, P. H. (1962). The systematics of *Oenothera*: subgenus *Chylismia*. *University California Public Botanic*, *34*, 1–122.
- Restrepo-Chica, M., & Bonilla-Gómez, M. A. (2017). Dinámica de la fenología y visitantes florales de dos bromelias terrestres de un páramo de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *88*(3), 636–645.
- Richards, A. J., Smith, R. A. S., & Bayliss, M. W. (2003). Apomixis in flowering plants: An overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *358*(1434), 1085–1093.
- Ríos, L. D., & Cascante-Marín, A. (2017). High selfing capability and low pollinator visitation in the hummingbird-pollinated epiphyte *Pitcairnia heterophylla* ( Bromeliaceae ) at a Costa Rican mountain forest. *Revista Biología Tropical*, *65*(June), 735–743.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., & Quesada, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*, *17*(3), 388–400.
- Ruan, C., Qin, P., & Teixeira Da Silva, J. (2010). Relationship between reproductive assurance and mixed mating in perennial *Kosteletzkya virginica*. *South African Journal of Botany*, *77*(1), 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.08.012>
- Sánchez, J., Duran, F., & Vega, G. (2008). *Diversidad de plantas , mamíferos y mariposas en los Cerros de La Carpintera , Costa Rica* (p. 98). Departamento de Historia Natural. Museo Nacional de Costa Rica. Ministerio de Cultura y Juventud.
- Santana, C. S., & Machado, C. G. (2010). Fenologia de floração e polinização de espécies ornitófilas de bromeliáceas em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, BA, Brasil. *Revista*



*Brasileira de Botânica*, 33(3), 469–477.

- Schiestl, F. P., & Schluter, P. M. (2009). Floral isolation, specialized pollination, and pollinator behavior in orchids. *Annual Review of Entomology*, 54, 425–446. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090603>
- Schleuning, M., Templin, M., Huamán, V., Vadillo, G. P., Becker, T., Durka, W., Fischer, M., & Matthies, D. (2011). Effects of Inbreeding, Outbreeding, and Supplemental Pollen on the Reproduction of a Hummingbird-pollinated Clonal Amazonian Herb. *Biotropica*, 43(2), 183–191.
- Schluter, D. (2014). Speciation and Macroevolution. In Jonathan Losos (Ed.), *Evolution* (pp. 483–599). Princeton University Press.
- Schmid, S., Schmid, V. S., Zillikens, A., Harter-Marques, B., & Steiner, J. (2010). Bimodal pollination system of the bromeliad *Aechmea nudicaulis* involving hummingbirds and bees. *Plant Biology*, 13(1), 41–50.
- Schoen, D., & Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . III . Methods for Studying Modes and Functional Aspects of Self-Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 381–393.
- Schulte, K., Silvestro, D., Kiehlmann, E., Vesely, S., Novoa, P., & Zizka, G. (2010). Detection of recent hybridization between sympatric Chilean *Puya* species (Bromeliaceae) using AFLP markers and reconstruction of complex relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(3), 1105–1119.
- Scopece, G., Musacchio, A., Widmer, A., & Cozzolino, S. (2007). Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. *Evolution*, 61(11), 2623–2642. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00231.x>
- Scrok, G. J., & Varassin, I. G. (2011). Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 25(3), 571–576.
- Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual. In *Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2003-9>
- Siquiera Filho, J. A. (2003). *Fenologia Da Floracao, Ecologia Da Polinizacao E Conservacao de Bromeliaceae Na Floresta Atlantica Nordestina*. Universidade Federal de Pernambuco.
- Smith, L., & Downs, R. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(1), 1–658.
- Smith, L., & Downs, R. (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(2), 663–1492.

- Smith, L., & Downs, R. (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(3), 1493–2142.
- Smith, L., & Till, W. (1998). Bromeliaceae. In K. Kubitzki (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants. IV. Flowering Plants. Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)* (pp. 74–99). Springer-Verlag.
- Snedecor, G., & Cochran, W. (1989). *Statistical Methods* (8th ed.). Iowa State Press.
- Sobel, J. M., & Chen, G. F. (2014). Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution*, 68(5), 1511–1522. <https://doi.org/10.1111/evo>
- Souza, E., Versieux, L. M., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Costa, M. A. P. de C., & Martinelli, A. P. (2017). Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. *Scientia Horticulturae*, 223(February), 53–61.
- Sprinthall, R. (2014). *Basic Statistical Analysis*. (9th Editio). Pearson.
- Stebbins, G. L. (1957). Self Fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, 91(861), 337–354.
- Stebbins, G. L. (1974). *Flowering plants: evolution above the species level*. Harvard University Press.
- Stebbins, G. L. (1977). *Flowering plants: evolution above in species level*. Harvard University Press.
- Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T. (1999). Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia*, 121(3), 432–440. <https://doi.org/10.1007/s004420050949>
- Stevens, P. (2017). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 14, July 2017 [and More or Less Continuously Updated Since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stewart, A. B., & Dudash, M. R. (2016). Differential pollen placement on an Old World nectar bat increases pollination efficiency. *Annals of Botany*, 117(1), 145–152. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv163>
- Straube, F., & Bianconi, G. (2002). Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiroptera Neotropical*, 8(1), 150–152.
- Stroo, A. (2000). Pollen morphological evolution in bat pollinated plants. *Plant Systematics and Evolution*, 222, 225–242.
- Subhash, R., Keim, J., & Solymos, P. (2019). *ResourceSelection: Resource Selection (Probability) Functions for Use-Availability Data. R package version 0.3-5*.
- Tallmon, D. A., Luikart, G., & Waples, R. S. (2004). The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(9), 489–496.
- Teixido, A. L., & Aizen, M. A. (2019). Reproductive assurance weakens pollinator-mediated selection on flower size in an annual mixed-mating species. *Annals of Botany*, 123, 1067–1077.

<https://doi.org/10.1093/aob/mcz014>

- Theiss, K., Holsinger, K., & Evans, M. (2010). Breeding system variation in 10 evening primroses ( *Oenothera* sections *Anogra* and *Kleinia*; Onagraceae). *American Journal of Botany*, *97*(6), 1031–1039.
- Timm, R., & LaVal, R. (2000). Mammals. In N. Nadkarni & N. Wheelwright (Eds.), *Monteverde: Ecology and Conservation of a Tropical Cloud Forest* (pp. 223–243). Oxford University Press.
- Torres, C. (2000). Pollen size evolution: Correlation between pollen volume and pistil length in Asteraceae. *Sexual Plant Reproduction*, *12*(6), 365–370. <https://doi.org/10.1007/s004970000030>
- Tschapka, M., & Dressler, S. (2002). Chiropterophily: On bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine*, *19*(2), 114–125. <https://doi.org/10.1111/1467-8748.00340>
- Tschapka, M., Dressler, S., & von Helversen, O. (2006). Bat visits to *Marcgravia pittieri* and notes on the inflorescence diversity within the genus *Marcgravia* (Marcgraviaceae). *Flora*, 383–388.
- Tschapka, M., & Von Helversen, O. (2007). Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Costa Rican lowland rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, *23*(4), 385–395.
- Utley, J. (1983). A revision of the middle american Tehecophylloid Vrieseas (Bromeliaceae). *Tulane Studies in Zoology and Botany*, *24*(1), 1–81.
- Vaz Mondo, V. H., Cicero, S. M., Dourado-Neto, D., Pupim, T. L., & Dias, M. A. N. (2013). Vigor de sementes e crescimento inicial da cultura do milho. *Journal of Seed Science*, *35*(1), 64–69. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000100009>
- Vervaeke, I., Parton, E., Maene, L., Deroose, R., & De Proft, M. P. (2001). Prefertilization barriers between different bromeliaceae. *Euphytica*, *118*(1), 91–97.
- Wang, X.-P., Yu, W.-B., Sun, S.-G., & Huang, S.-Q. (2016). Pollen size strongly correlates with stigma depth among *Pedicularis* species. *Journal of Integrative Plant Biology*, *58*(10), 818–821. <https://doi.org/10.1111/jipb.12477>
- Webb, C., & Lloyd, D. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, *24*, 163–178.
- Weber, M. G., & Strauss, S. Y. (2016). Coexistence in Close Relatives: Beyond Competition and Reproductive Isolation in Sister Taxa. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *47*, 359–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054048>
- Wendt, T., Canela, M. B. F., Klein, D. E., & Rios, R. I. (2002). Selfing facilitates reproductive

- isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 232(3–4), 201–212.
- Wendt, T., Coser, T. S., Matallana, G., & Guilherme, F. A. G. (2008). An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 275(1–2), 31–41.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2 - Elegant Graphics for Data Analysis* | Hadley Wickham | Springer (Second). Springer-Verlag Nueva York.
- Widmer, A., Lexer, C., & Cozzolino, S. (2009). Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity*, 102(1), 31–38. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.69>
- Wilcock, C., & Neiland, R. (2002). Review Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7(6), 270–277.
- Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80–83.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press.
- Wilson, D., Cole, R., Nichols, J., Rudran, R., & Foster, M. (1996). *Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for mammals*. Smithsonian Institution Press.
- Wolowski, M., Saad, C., Ashman, T., & Freitas, L. (2013). Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the Neotropics. In *Naturwissenschaften*. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0995-0>
- Wright, S. I., Slotte, T., & Kalisz, S. (2013). Evolutionary consequences of self-fertilization in plants. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1760), 1–10.
- Xu, X., Meng, Q. L., Geng, M. F., Ren, N. N., Zhou, L., Du, Y. S., Cai, Z., Wang, M. X., Wang, X., Wang, X. H., Han, J. D., Jiang, S., Jing, C. Y., Liu, R., Zheng, X. M., Yang, Q. W., Zhang, F. M., & Ge, S. (2020). Divergence in flowering time is a major component contributing to reproductive isolation between two wild rice species (*Oryza rufipogon* and *O. nivara*). *Science China Life Sciences*, 63(11), 1714–1724. <https://doi.org/10.1007/s11427-019-1678-6>
- Yang, C. F., Gituru, R. W., & Guo, Y. H. (2007). Reproductive isolation of two sympatric louseworts, *Pedicularis rhinanthoides* and *Pedicularis longiflora* (Orobanchaceae): How does the same pollinator type avoid interspecific pollen transfer? *Biological Journal of the Linnean Society*, 90(1), 37–48. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00709.x>
- York, H. A., Rodríguez-Herrera, B., Laval, R. K., Timm, R. M., & Lindsay, K. E. (2019). Field key to the bats of Costa Rica and Nicaragua. *Journal of Mammalogy*, 100(6), 1726–1749.

<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyz150>

- Zangerl, A., Berenbaum, M., & Nitao, J. (1991). Parthenocarpic fruits in wild parsnip : decoy defence against a specialist herbivore. *Evolutionary Ecology*, 5, 136–145.
- Zar, J. (2010). *Biostatistical analysis (5th ed.)*. Prentice-Hall/Pearson.
- Zhi-Qiang, Z., & Quing-Jun, L. (2008). Autonomous selfing provides reproductive assurance in an alpine ginger *Roscoea schneideriana* (Zingiberaceae). *Annals of Botany*, 102(4), 531–538. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn136>
- Zizka, A., Azevedo, J., Leme, E., Neves, B., Costa, A. F., Caceres, D., & Zizka, G. (2019). Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). *Diversity and Distributions*, 26(2), 183–195. <https://doi.org/10.1111/ddi.13004>
- Zotz, G. (2013). The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(3), 453–481. <https://doi.org/10.1111/boj.12010>

**Cuadro 1.** Características de la biología floral de las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de la Carpintera, Costa Rica. En los caracteres cuantitativos se indica el rango, promedio  $\pm$  desviación estándar y tamaño de muestra cuando corresponde.

Rasgo floral	<i>W. ampla</i>	<i>W. nephrolepis</i>	<i>W. pedicellata</i>	<i>W. subsecunda</i>
Tipo de inflorescencia	Espiga	Espiga compuesta por ramas reducidas	Panicula	Espiga
Inflorescencia por roseta	1	1	1	1
Flores/infloresc.	Rango 7 – 24 $\bar{X}$ 13.3 $\pm$ 3.6 (N= 45)	Rango 9 – 42 $\bar{X}$ 26.7 $\pm$ 6.1 (N= 42)	Rango 20 – 145 $\bar{X}$ 54.7 $\pm$ 29.6 (N=42)	Rango 3 – 13 $\bar{X}$ 8 $\pm$ 1.8 (N= 50)
Despliegue floral por inflorescencia (min-max)	1 (rara vez 2) (N= 37)	Rango 2 – 14 $\bar{X}$ 6.5 $\pm$ 2.5 (N= 37)	Rango 2 – 12 $\bar{X}$ 5.4 $\pm$ 2.7 (N= 32)	1 (rara vez 2 o 3) (N= 62)
Apertura de flores	Acropétala	Acropétala	Desordenada, pero iniciando con flores de ramas basales	Acropétala
Brácteas florales, primarias y sépalos (color)	Verde o pardo	Verde	Verde (a veces teñidas de marrón)	Verde
Forma de la corola	Campanulada	Bilabiada	Campanulada	Campanulada
Color de la corola	Blanca-verdosa o blanca-marrón en el ápice de los pétalos	Blanca-verdosa	Blanca-translúcido o blanca-marrón	Blanca-verdosa
Estigma (posición)	Dorsal	Dorsal	Dorsal	Lateral
Anteras (posición)	Dorsal	Dorsal en tripletes	Dorsal	Tripletes laterales
Estructuras reproductivas respecto a la corola	Exerta (mayormente) (n= 58)	Inserta (n= 55)	Inserta (n= 31)	Inserta (n= 32)
Hora de antesis	Previo al crepúsculo (15 – 17:30 h) (n= 72)	Previo al crepúsculo (16 – 17:30 h) (n= 71)	Previo al crepúsculo (16 – 18:00 h) (n= 91)	Previo al crepúsculo (15:30 – 17:00 h) (n= 56)
Emisión de aromas florales (prueba organoléptica)	Poco evidente (fruta fermentada)	Muy evidente (ajo y fruta fermentada)	Muy evidente (ajo)	Evidente (fruta fermentada)
Tipo de Dicogamia y duración	Protoginia incompleta (5 - 135 min, $\bar{X}$ 71.1 $\pm$ 33.1 min) (n= 58)	Protoginia incompleta (10 - 60 min, $\bar{X}$ 13.5 $\pm$ 9.2 min) sincronizada a nivel de individuo (n= 55)	Protoginia incompleta (20 - 75 min, $\bar{X}$ 46.4 $\pm$ 19.3 min) sincronizada a nivel de individuo (n= 31)	Protoginia incompleta (5 - 70 min, $\bar{X}$ 25.4 $\pm$ 16.9 min) (n= 32)
Hercogamia	Ausente o de aproximación (2 - 5 mm) (n= 58)	Mayormente ausente (n= 55)	Ausente o de aproximación (1.5 - 2 mm) (n= 31)	Mayormente ausente (n= 32)
Longevidad de la flor	24 h (n= 58)	18 - 20 h (n= 55)	12 – 13 h (n= 31)	12 – 13 h (n= 32)
Concentración de néctar (%)	Rango 12 – 18 $M_o$ = 17 (33 fl / 4 ind)	Rango 8 – 14 $M_o$ = 12 (30 fl / 6 ind)	Rango 3 – 13 $M_o$ = 12 (33 fl / 11 ind)	Rango 8 – 13 $M_o$ = 12 (20 fl / 5 ind)
Volumen de néctar ( $\mu$ l)	Rango 184.2 – 952.9 $\bar{X}$ 598.1 $\pm$ 217.2 (33 fl / 4 ind)	Rango 30 – 574.8 $\bar{X}$ 327.7 $\pm$ 199 (30 fl / 6 ind)	Rango 1 – 50.5 $\bar{X}$ 11.9 $\pm$ 10.0 (33 fl / 11 ind)	Rango 5 – 82.5 $\bar{X}$ 35.3 $\pm$ 29 (20 fl / 5 ind)

**Cuadro 2.** Visitación de murciélagos nectarívoros registrada por cámaras trampa en *W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Datos de los periodos de floración de 2019, 2020 y 2021.

Especie	Año	No. de plantas monitoreadas	No. de noches monitoreados	No. de flores	No. de visitas registradas/Plantas visitadas	Frecuencia de visitación/noche
<i>W. a</i> *	2019	3	35	35	-	0.00
	2020	8	72	72	-	0.00
	2021	6	57	57	2/2	0.04
<i>W. n</i>	2020	6	23	83	-	0.00
	2021	11	67	300	16/4	0.24
<i>W. p</i>	2020	4	38	252	8/1	0.21
	2021	6	67	554	5/1	0.07
<i>W. s</i> *	2019	3	18	18	-	0.00
	2020	3	26	26	2/1	0.08
	2021	6	51	51	-	0.00
<b>Total</b>		<b>56</b>	<b>454</b>	<b>1448</b>	<b>33</b>	<b>0.07</b>

\* Cada planta de *W. ampla* y *W. subsecunda* generalmente abre una flor de noche por medio.

**Cuadro 3.** Resultados de producción de frutos por tratamiento de polinizaciones controladas y valores de los índices obtenidos para describir el sistema reproductivo de las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

Tratamientos de polinización	<i>W. ampla</i>	<i>W. nephrolepis</i>	<i>W. pedicellata</i>	<i>W. subsecunda</i>
Número de individuos (N)	17	15	16	25
Auto-Polinización manual	75 % (12/16)	100 % (36/36)	50 % (15/30)	87.5 % (14/16)
Auto-Polinización espontánea	43.3 % (13/30)	71.1 % (32/45)	31.1 % (14/45)	76.7 % (23/30)
Polinización cruzada manual	82.4 % (14/17)	94.3 % (33/35)	58.1 % (18/31)	76.5 % (13/17)
Agamospermia	0 % (0/19)	10.5 % (4/38)	3.4 % (1/29)	0 % (0/17)
Natural (control) N= 22 por especie	63.3 % (19/30)	64.4 % (29/45)	47.5 % (28/59)	73.3 % (22/30)
Auto-Polinización manual tardía	70 % (14/20)	-	-	-
Índice de Auto-Compatibilidad (SCI)	0.92	1.06	0.86	1.14
Índice de Auto-Fertilidad (AFI)	0.53	0.75	0.54	1.00
Índice de Agamospermia (AGI)	0.0	0.11	0.06	0.0

Los porcentajes corresponden a la proporción de frutos por flores tratadas (número de frutos/número de flores). Las especies con los valores de: SCI, AFI y AGI cercanos a 1, se consideran completamente auto-compatibles, autógamas y agamospérmicas respectivamente.



**Cuadro 4.** Número de semillas viables y abortadas por fruto (promedio  $\pm$  desviación estándar) según cada tratamiento de polinización controlada para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Se indica el valor del Índice de Endogamia (IDI) para este parámetro reproductivo.

Tratamientos de polinización	<i>W. ampla</i>	<i>W. nephrolepis</i>	<i>W. pedicellata</i>	<i>W. subsecunda</i>
<b>Auto-Polinización Espontánea</b>				
Semillas viables	1255 $\pm$ 485 <sup>a</sup>	522 $\pm$ 89	171 $\pm$ 79 <sup>a</sup>	615 $\pm$ 181
Semillas abortadas	356 $\pm$ 234 (fr=22)	48 $\pm$ 25 (fr=20)	96 $\pm$ 89 (fr=8)	84 $\pm$ 59 (fr=21)
<b>Auto-Polinización Manual</b>				
Semillas viables	1815 $\pm$ 624 <sup>ab</sup>	564 $\pm$ 56	313 $\pm$ 102 <sup>b</sup>	544 $\pm$ 285
Semillas abortadas	283 $\pm$ 242 (fr=15)	50 $\pm$ 14 (fr=14)	42 $\pm$ 27 (fr=9)	74 $\pm$ 72 (fr=10)
<b>Polinización cruzada Manual</b>				
Semillas viables	2136 $\pm$ 497 <sup>b</sup>	514 $\pm$ 94	367 $\pm$ 48. <sup>b</sup>	636 $\pm$ 234
Semillas abortadas	150 $\pm$ 238 (fr= 14)	55 $\pm$ 37 (fr=15)	30.3 $\pm$ 18.3 (fr=8)	69 $\pm$ 87 (fr=8)
<b>Natural (control)</b>				
Semillas viables	1412 $\pm$ 818 <sup>a</sup>	498 $\pm$ 86	303 $\pm$ 86 <sup>b</sup>	484 $\pm$ 210
Semillas abortadas	372 $\pm$ 298 (fr=28)	76 $\pm$ 53 (fr=26)	41 $\pm$ 35 (fr=46)	188 $\pm$ 91 (fr=16)
<b>Auto-Polinización Manual tardía</b>				
Semillas viables	1486 $\pm$ 616 <sup>a</sup>	-	-	-
Semillas abortadas	492 $\pm$ 433 (fr= 15)			
Índice de Depresión Endogámica (IDI) <sup>1/</sup>	0.15	-0.10	0.15	0.14

Los números entre paréntesis corresponden a la cantidad de frutos. Las letras indican diferencia significativa entre los tratamientos, según la prueba de Tukey's HSD.

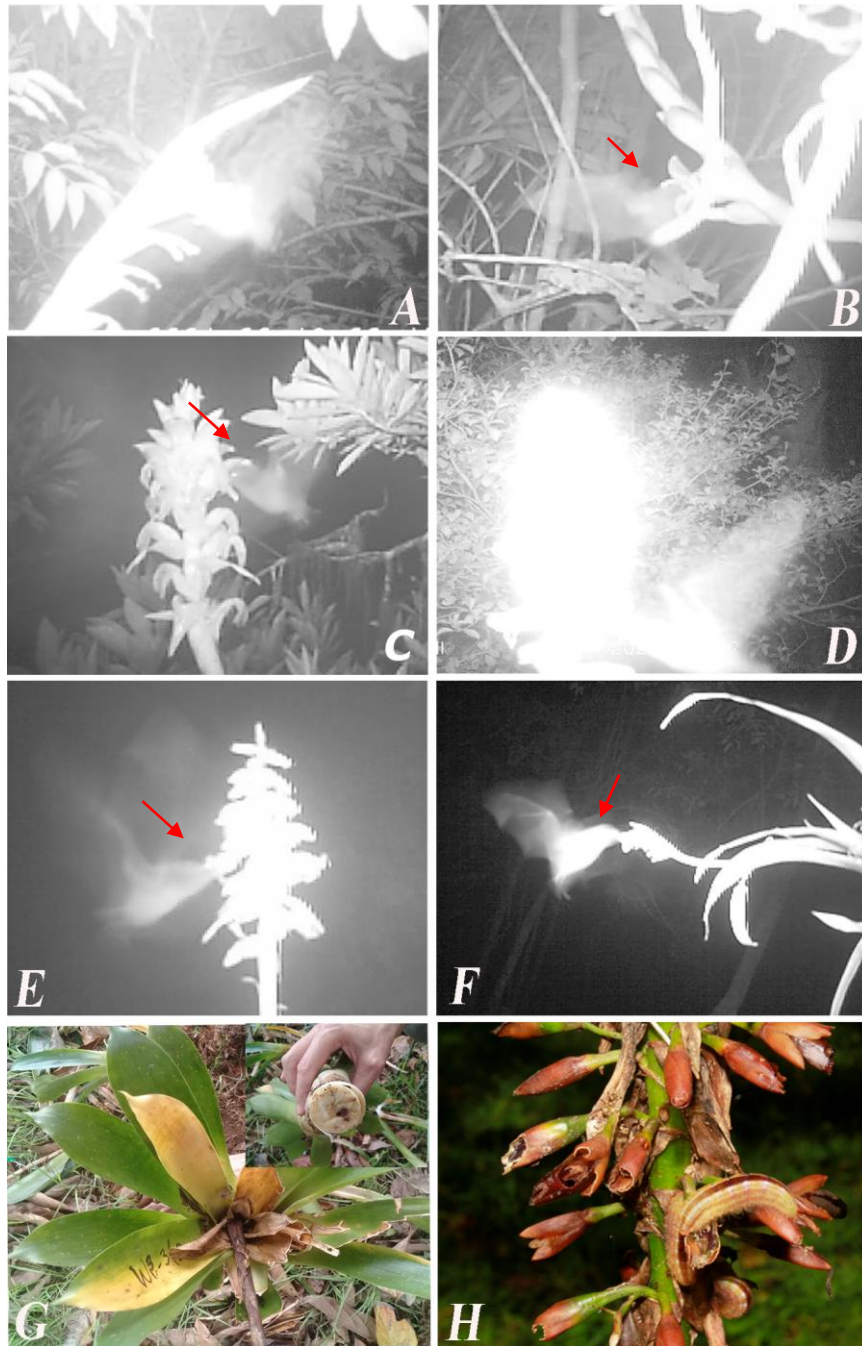
<sup>1/</sup>IDI = 1 - (cantidad semillas auto-cruzadas / cantidad semillas exocruzadas). Valores de IDI cercanos a 0 indican ausencia de depresión endogámica (Charlesworth & Charlesworth, 1987).

**Cuadro 5.** Parámetros estimados para el GLM que trata la relación entre la producción de frutos de los tratamientos de polinización natural/emasculado y natural/control de las especies de *Werauhia ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda* (Bromeliaceae) y año (2020 y 2021), en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

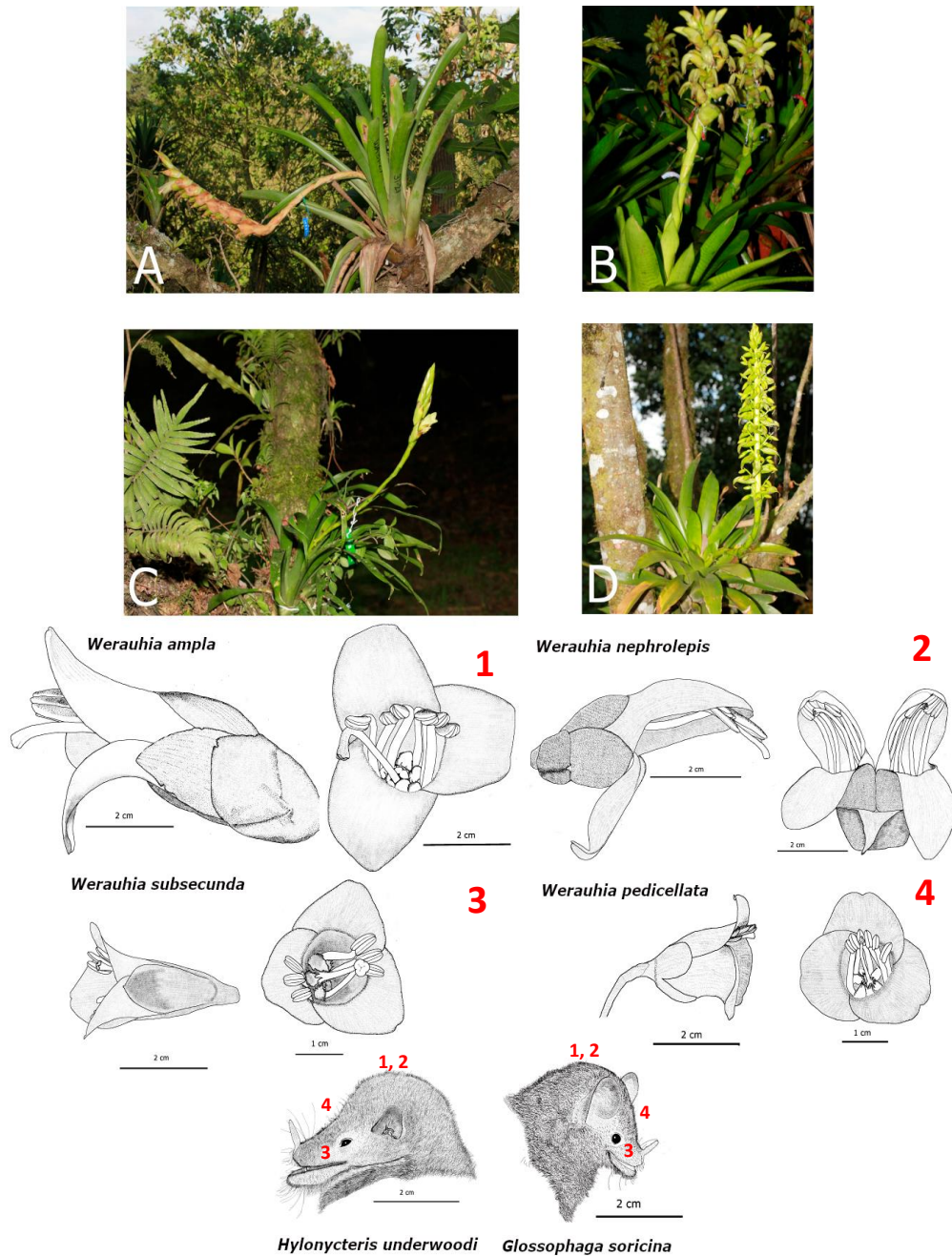
Parámetro	Grados de libertad	Estimación	Error Estándar	Wald Chi-Square	P	Razón de probabilidad (Odds Ratio)	Intervalo de confianza (95 %)
<b><i>W. ampla</i></b>							
Intercepto	1	1.22	0.33	3.76	< 0.001	3.40	1.80 – 6.44
Tratamiento	1	0.10	0.30	0.34	0.732	1.11	0.61 – 2.01
Año	1	0.03	0.39	0.39	0.929	1.03	0.48 – 2.22
Tratamiento x año	1						
Error	583						
<b><i>W. nephrolepis</i></b>							
Intercepto	1	-1.29	0.20	-6.38	< 0.001		
Tratamiento	1	2.32	0.28	8.37	< 0.001	10.17	5.91 – 17.51
Año	1	-0.17	0.25	-0.68	0.498	0.84	0.52 – 1.38
Tratamiento x año	1	0.48	0.35	1.39	0.164	1.62	0.82 – 3.18
Error	880						
<b><i>W. pedicellata</i></b>							
Intercepto	1	-1.09	0.21	-5.24	< 0.001		
Tratamiento	1	0.28	0.29	0.99	0.321	1.33	0.76 – 2.32
Año	1	-0.44	0.26	-1.70	0.088	0.65	0.29 – 1.07
Tratamiento x año	1	1.12	0.34	3.28	0.001	3.07	1.57 – 6.01
Error	846						
<b><i>W. subsecunda</i></b>							
Intercepto	1	-1.97	0.28	-7.16	< 0.001		
Tratamiento	1	2.48	0.32	7.68	< 0.001	11.96	6.34 – 22.53
Año	1	0.37	0.34	1.09	0.278	1.45	0.74 – 2.84
Tratamiento x año	1	-0.09	0.42	-0.21	0.831	0.92	0.42 – 2.07
Error	614						



**Figura 1.** Características morfológicas de las flores y de su senescencia en las especies de estudio: A) Flor de *Weruuhia ampla* que muestra hercogamia de aproximación, B - D) Secuencia de flores de *W. ampla* desde la antesis con el estigma receptivo y presentación de polen, hasta la senescencia entrando en contacto sus estructuras reproductivas y depositando polen en el propio estigma (indicado por las flechas), E) Flores de *W. nephrolepis* que muestran hercogamia de aproximación, F - H) Secuencia de flores de *W. nephrolepis*, desde la antesis con el estigma receptivo y presentación de polen, hasta la senescencia entrando en contacto sus estructuras reproductivas y depositando polen en el propio estigma (indicado por la flecha). I) Flor de *W. pedicellata* que muestra hercogamia de aproximación (indicada por la flecha), J - L) Secuencia de flores de *W. pedicellata* desde la antesis con el estigma receptivo y presentación de polen, hasta la senescencia cuando entran en contacto sus estructuras reproductivas y se deposita el polen en el propio estigma, M) vista frontal de la flor de *W. subsecunda* en antesis, - N - P) Secuencia de flores de *W. subsecunda* desde inició del cierre de la corola con el estigma aún receptivo y presentación de polen, hasta la senescencia completa cuando entran en contacto sus estructuras reproductivas y se deposita polen propio en el estigma (indicado por la flecha).

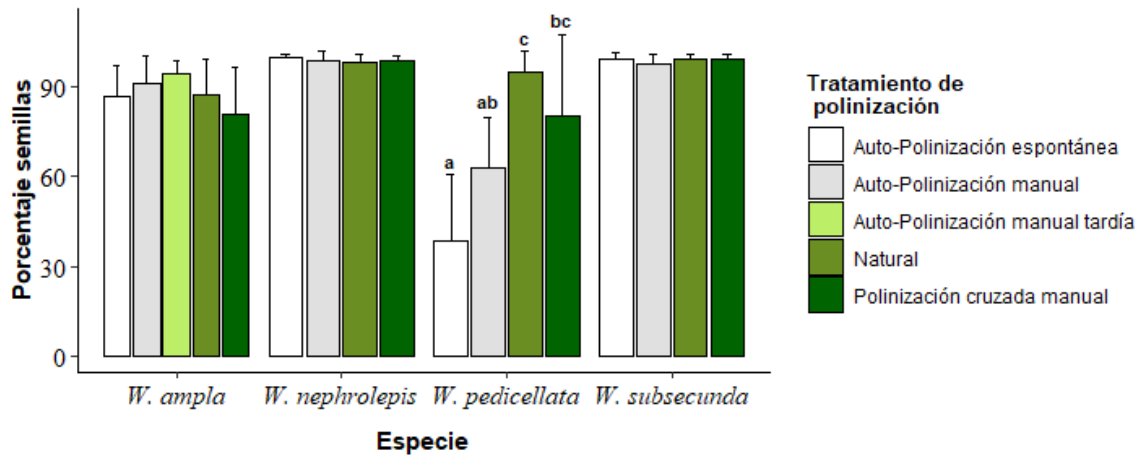


**Figura 2.** Imágenes nocturnas de cámaras trampa mostrando la visitación de murciélagos frugívoros a las flores de (A y B) *W. ampla*, C) *W. nephrolepis*, D y E) *W. pedicellata* y F) *W. subsecunda*. G) Planta de *W. pedicellata* con herbivoría en la base de la roseta e inflorescencia, H) Frutos semi-maduros de *W. pedicellata* atacados por larvas de Lepidoptera: Licaenidae.

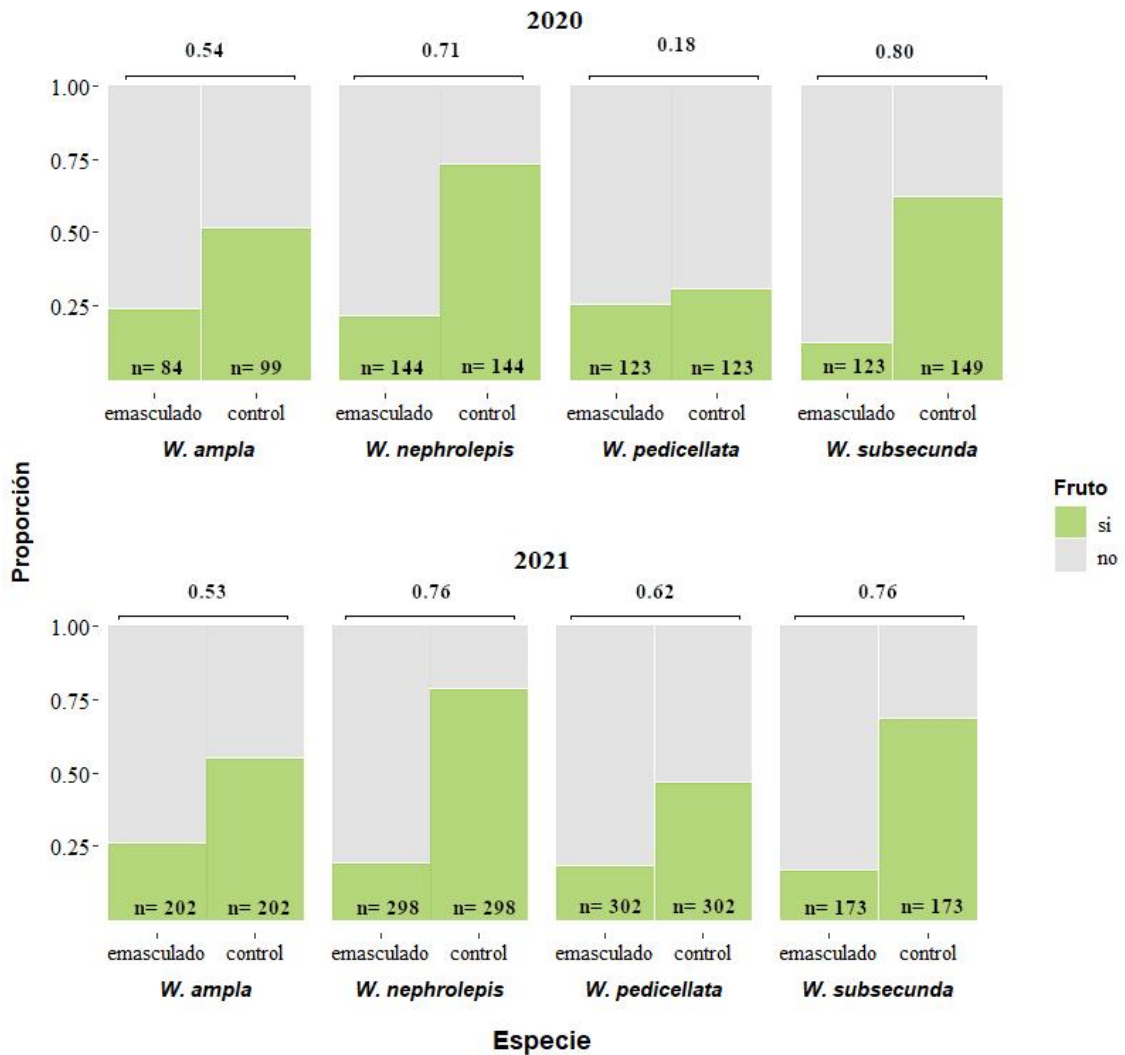


**Figura 3.** (Parte superior) Individuos reproductivos de las especies de estudio: A) *W. ampla*, B) *W. nephrolepis*, C) *W. subsecunda* y D) *W. pedicellata*. (parte inferior) Diagramas florales que muestran la disposición espacial de los órganos reproductivos (vista frontal y dorsal de las flores) de las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) estudiadas, en relación con el sitio donde ocurre la deposición de polen en el cuerpo de los murciélagos polinizadores (los números corresponden a cada bromelia) en un bosque montano de Los Cerros de la Carpintera, Costa Rica. Fotografías: Alfredo Cascante-Marín. Dibujos: Stephanie Núñez.

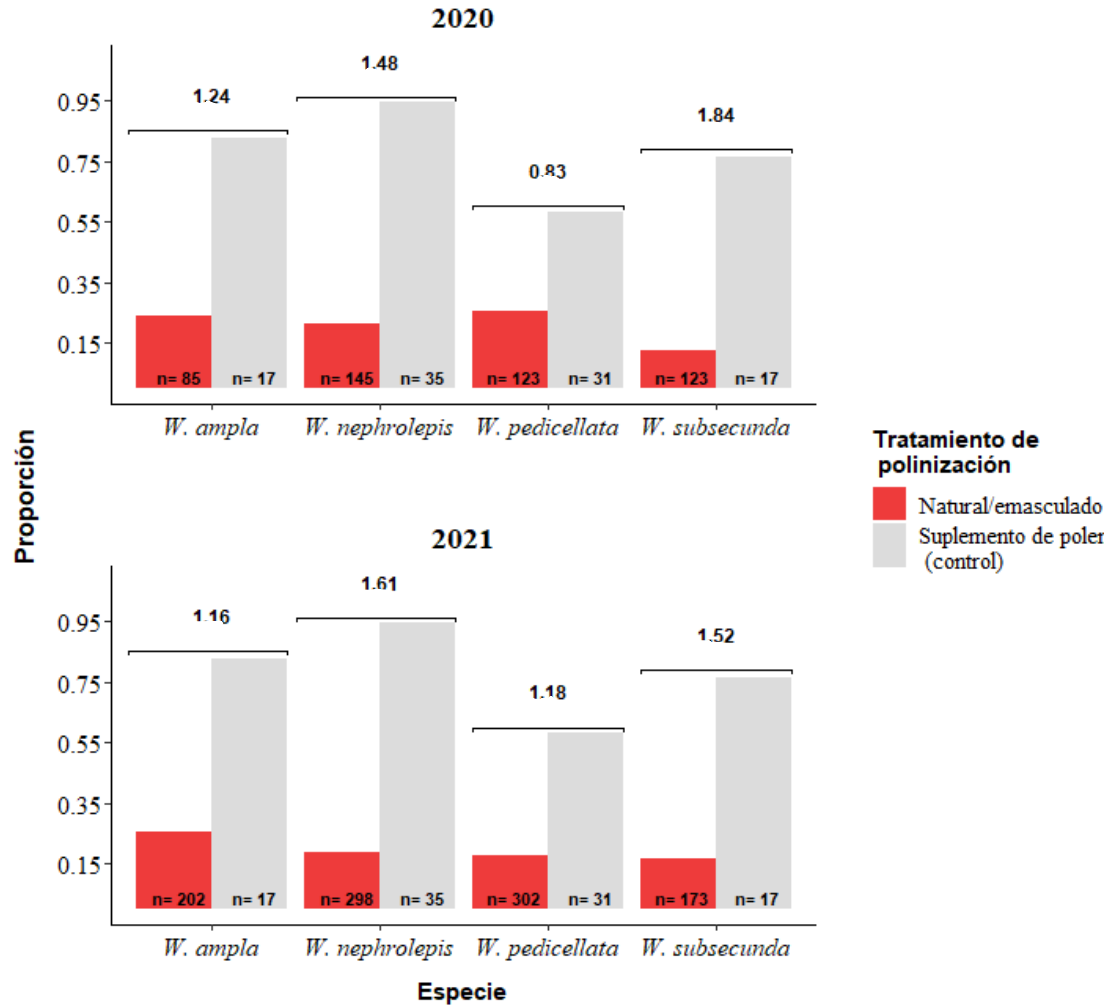




**Figura 4.** Porcentaje promedio de semillas germinadas por caja Petri (40 semillas/caja, 12 réplicas) para cada tratamiento de polinización, para cuatro especies del género *Werauhia* (Bromeliaceae) de un bosque montano en los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos, según la prueba de Wilcoxon.



**Figura 5.** Proporción de frutos producidos en los tratamientos de polinización natural/emasculado y natural/control para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) estudiadas en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Sobre las barras se indica el valor del Índice de Aseguramiento Reproductivo (RAI). Sobre las barras se indica el valor del Índice de Aseguramiento Reproductivo (RAI).



**Figura 6.** Proporción de frutos producidos en los tratamientos de polinización natural/emasculado y suplemento de polen (control) para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) estudiadas en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Sobre las barras se indica el valor del *Índice de limitación de polen* (PLI). Las comparaciones entre los tratamientos para las cuatro especies fueron significativas ( $P < 0.001$ , Prueba Z).



### Material suplementario

**Cuadro S1.** Número de granos de polen de diferentes especies de plantas colectados en el cuerpo de murciélagos nectarívoros en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

Especie	Parte del cuerpo	<i>Werauhia ampla</i>	<i>W. subsecunda</i>	<i>Ipomoea batatas</i>	<i>Merinthopodium neuranthum</i>	<i>Calliandra calothyrsus</i>	<i>Schultesianthus leucanthus</i>
<i>Hylonicterys underwoodi</i>	cabeza	508	-		21	-	-
<i>Glossophaga soricina</i>	cabeza	7	-	60	-	-	-
<i>H. underwoodi</i>	cabeza	-	-	-	-	3	-
	hocico	-	-	-	-	3	-
<i>H. underwoodi</i>	cabeza	710	-	12	26	-	-
	ala	156	-	3	70	-	-
<i>H. underwoodi</i>	cabeza	5250	-	-	90	-	9853
	hocico	-	146	-	62	-	87
<i>H. underwoodi</i>	cabeza	-	-	156	-	-	-

**Cuadro S2.** Resultados de producción de frutos para el tratamiento de polinización de flores en condición natural/ emasculadas y natural/control para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica. Se indican los valores del Índice de Aseguramiento Reproductivo (RAI) y de limitación de polen (PLI). En paréntesis se indica la cantidad de frutos desarrollados / flores manipuladas.

Tratamientos de polinización	W. <i>ampla</i>	W. <i>nephrolepis</i>	W. <i>pedicellata</i>	W. <i>subsecunda</i>
<b>Año 2020</b>				
Número de individuos (N)	22	20	13	42
Natural/emasculada	23.8 % (20/84)	21.5 % (31/144)	25.2 % (31/123)	12.2 % (15/123)
Natural (control)	51.5 % (51/99)	73.6 % (106/144)	30.9 % (38/123)	62.4 % (93/149)
Índice de Aseguramiento reproductivo (RAI) <sup>1/</sup>	0.54	0.71	0.18	0.80
Índice de Limitación de Polen (PLI) <sup>2/</sup>	1.24	1.48	0.83	1.79
<b>Año 2021</b>				
Número de individuos (N)	47	40	31	53
Natural/emasculada	25.7 % (52/202)	18.8 % (56/298)	17.9 % (54/302)	16.8 % (29/173)
Natural (control)	55.0 % (111/202)	79.2 % (236/298)	47.0 % (142/302)	68.8 % (119/173)
Índice de Aseguramiento reproductivo (RAI) <sup>1/</sup>	0.53	0.76	0.62	0.76
Índice de Limitación de Polen (PLI) <sup>2/</sup>	1.16	1.61	1.18	1.52

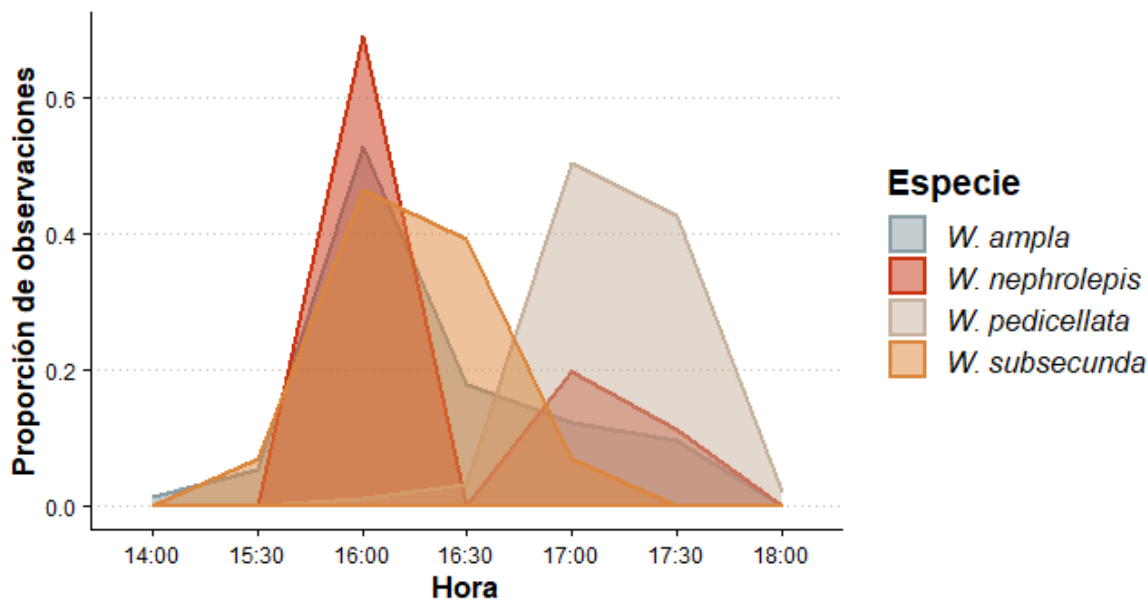
<sup>1/</sup> RAI= 1- (prop. frutos natural-emasculada / prop. frutos natural-control). Valores de RAI cercanos a 1 se considera que la autogamia proporciona aseguramiento reproductivo (Schoen & Lloyd, 1992).

<sup>2/</sup> PLI = Ln (prop. frutos control [suplemento de polen] / prop. frutos natural-emasculada). El tratamiento de suplemento de polen corresponde a los datos de polinizaciones cruzadas manuales (Cuadro 3). Los valores de PLI positivos indican presencia de limitación de polen (Knight et al., 2005).

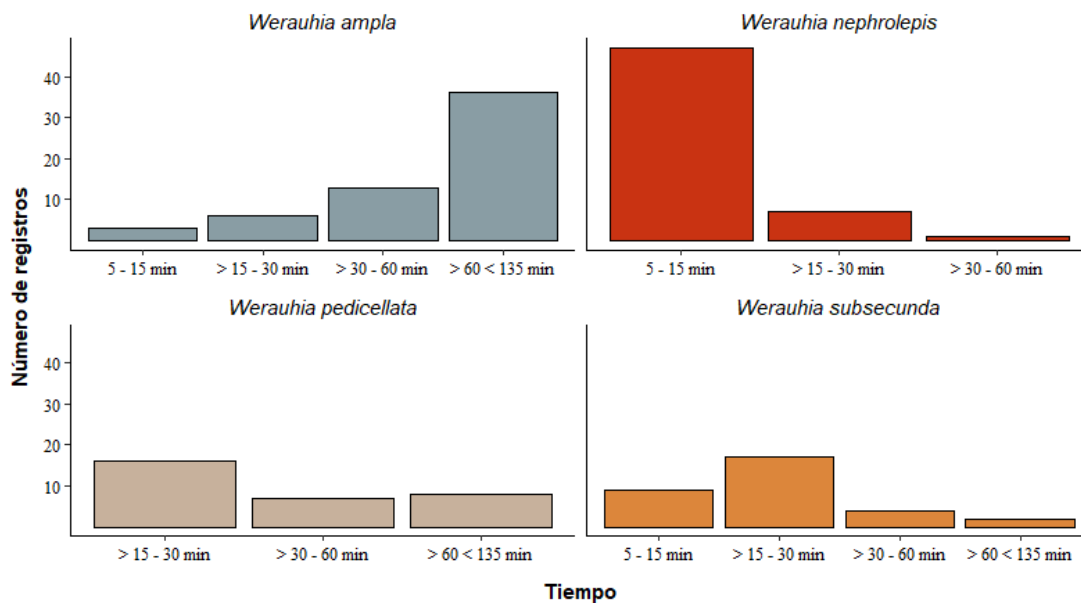
**Cuadro S3.** Porcentaje promedio ( $\pm$  desv. estandar) de semillas germinadas por caja Petri para cada tratamiento de polinización para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

Tratamiento de polinización	<i>W. ampla</i>	<i>W. nephrolepis</i>	<i>W. pedicellata</i>	<i>W. subsecunda</i>
Auto-Polinización espontánea	86.5 $\pm$ 10.5 (fr= 22)	99.4 $\pm$ 1.1 (fr= 20)	38.6 $\pm$ 22.0 (fr= 8)	98.8 $\pm$ 2.3 (fr= 21)
Auto-Polinización manual	90.8 $\pm$ 9.0 (fr= 15)	98.5 $\pm$ 2.9 (fr= 14)	62.7 $\pm$ 16.9 (fr= 9)	97.1 $\pm$ 3.7 (fr= 10)
Polinización cruzada manual	80.6 $\pm$ 15.7 (fr= 14)	98.1 $\pm$ 1.9 (fr= 15)	79.8 $\pm$ 27.2 (fr= 8)	98.8 $\pm$ 2.0 (fr= 8)
Natural	87.1 $\pm$ 12.1 (fr= 28)	97.7 $\pm$ 2.9 (fr= 26)	94.6 $\pm$ 6.9 (fr= 46)	99.2 $\pm$ 1.2 (fr= 16)
Auto-Polinización manual tardía	94.0 $\pm$ 4.5 (fr= 28)	-	-	-
Índice de Depresión Endogámica (IDI) *	-0.12	0.00	0.24	0.02

\* Los valores de IDI cercanos a 0 indican ausencia de depresión endogámica (Charlesworth & Charlesworth, 1987).



**Figura S1.** Horas de inicio de la antesis floral para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.



**Figura S2.** Separación temporal (minutos) entre la fase receptiva del estigma y presentación de polen (protoginia) para las especies de *Werauhia* (Bromeliaceae) en un bosque montano de los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

### Capítulo III:

## Coexistencia reproductiva en bromelias epífitas del género *Werauhia* J.R. Grant (Bromeliaceae) en un bosque montano, Costa Rica.

### Resumen (282 palabras)

**Introducción:** Los mecanismos de aislamiento reproductivo en plantas permiten la coexistencia en el mismo hábitat de especies que comparten una historia evolutiva. Estos mecanismos también contribuyen a mantener la independencia evolutiva de las especies.

**Objetivo:** Con el fin de comprender los mecanismos que permiten dicha coexistencia y mantenimiento de la diversidad local en plantas neotropicales y específicamente en la familia Bromeliaceae, se examinó la fuerza y contribución de diferentes mecanismos de aislamiento reproductivo (pre- y post-polinización) en cuatro especies simpátricas de bromelias del género *Werauhia* (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata*, *W. subsecunda*) en un bosque montano en Costa Rica.

**Metodología:** La contribución de los diferentes mecanismos se estimó por medio de *Índices de Aislamiento Reproductivo* (RI) relacionados con la fenología reproductiva, morfología floral, compatibilidad inter-específica, producción y viabilidad de semillas híbridas.

**Resultados principales:** El aislamiento temporal por fenología floral mostró en general valores altos de RI que se refleja en una importante contribución al aislamiento reproductivo. Las diferencias en el tamaño de la flor y posición de las estructuras reproductivas permiten el aislamiento mecánico debido a que el polen es depositado en diferentes partes del cuerpo del polinizador. Los cruces manuales inter-específicos mostraron incompatibilidad completa entre especies, excepto para la combinación *W. subsecunda* (receptor de polen) × *W. ampla* (donador de polen) que produjo un 47.1% de éxito, pero con una baja producción de semillas y menor capacidad de germinación.

**Conclusiones:** Los mecanismos pre-polinización (fenología y diseño floral) son de gran importancia para el aislamiento reproductivo entre las especies de *Werauhia* estudiadas. La estimación adecuada de los mecanismos de aislamiento reproductivo en otros grupos de plantas permitirá comprender cómo coexisten las especies y se mantiene la diversidad en los ecosistemas neotropicales.

**Palabras clave:** aislamiento reproductivo, pre-polinización, post-polinización, Tillandsioideae.

## Introducción

La coexistencia es definida como el estado en que poblaciones de diferentes especies mantienen un crecimiento positivo o en equilibrio a largo plazo (Weber & Strauss, 2016). Entre especies cercanamente emparentadas la coexistencia está determinada por una serie de aspectos evolutivos y ecológicos, en donde el aislamiento reproductivo ha sido de particular interés de estudio (Weber & Strauss, 2016). El estudio de la coexistencia entre especies emparentadas permite conocer los mecanismos que mantienen los procesos de divergencia y especiación (Weber & Strauss, 2016).

En el Trópico se estima que un 94 % de las angiospermas son polinizadas por animales (Ollerton et al., 2011) y es frecuente encontrar que diferentes especies que exhiben el mismo síndrome de polinización coexisten en simpatria (Levin & Anderson, 1970). El uso del mismo vector de polinización puede implicar la transferencia y deposición inter-específica de polen, cuya consecuencia es el descuento de polen y semillas, así como la formación de híbridos inviables (Campbell & Aldridge, 2006; Moreira-Hernández & Muchhala, 2019).

La hibridación natural es bastante común entre especies emparentadas simpátricas donde las condiciones ecológicas lo permiten (Grant, 1981). Los híbridos pueden ser importantes para enriquecer las reservas genéticas (Stebbins, 1977) o como un reservorio genético para reconstituir los genotipos y fenotipos (Anderson, 1953) e inclusive se ha sugerido que es muy importante para los procesos macroevolutivos (Arnold, 1997). Además, las perturbaciones ambientales pueden crear nuevos nichos que a menudo son más adecuados para los híbridos que para las especies parentales (Stebbins, 1977), lo que puede ofrecer una mayor adaptación de las especies a colonizar nuevos ambientes (Anderson, 1953). Sin embargo, entre especies simpátricas con una relación filogenética muy cercana, es frecuente encontrar una serie de mecanismos para evitar la hibridación y que les confiere a las especies aislamiento reproductivo (Darwin, 1859; Harrison, 2014).

Los mecanismos de aislamiento reproductivo son necesarios para que ocurra la especiación y evitan el cruzamiento o hibridación entre especies congéneres simpátricas restringiendo el flujo de genes inter-específico y contribuyendo a conservar su integridad genética e independencia evolutiva de las especies (Darwin, 1859; Levin, 1971). Estos mecanismos o barreras de aislamiento reproductivo consisten en diferencias florales de carácter morfológico, fisiológico o genético que impiden el flujo génico entre especies y pueden clasificarse en dos tipos según si ocurren antes (pre-

polinización) o después (post-polinización) de la polinización (Levin, 1971; Campbell & Aldridge, 2006).

Las barreras de aislamiento reproductivo pre-polinización pueden ser temporales o florales (Levin, 1971). Las barreras temporales se refieren a diferencias en los patrones de floración (fenología floral) o el periodo del día o noche en que se presenta la antesis floral (Levin, 1971). El aislamiento por mecanismos florales puede darse de dos formas: i) aislamiento mecánico, relacionado con los síndromes de polinización animal (Grant, 1948) y que corresponden a adaptaciones morfológicas (tamaño y forma de la flor) para polinizadores específicos o que promueven la deposición del polen en diferentes partes del cuerpo del polinizador por variación en la posición del estigma y las anteras (Grant, 1948; Grant, 1994; Campbell & Aldridge, 2006); y el ii) aislamiento etológico que está restringido a la polinización por insectos (Grant, 1948) y se basa en la capacidad de los polinizadores de percibir y diferenciar entre señales florales que les proporcionan preferencias florales específicas (Levin, 1971; Grant, 1994a). Los mecanismos post-polinización también han sido categorizados en pre-cigóticos, cuando ocurre incompatibilidad (rechazo químico del polen) en el estigma y estilo de la flor y en post-cigóticos cuando ocurre la fertilización pero se producen híbridos no viables, infértiles o con bajo éxito de polinización (Levin, 1971; Campbell & Aldridge, 2006). Además, las diferencias en el número de cromosomas (ploidía) entre individuos de poblaciones diferentes o especies también puede actuar como una barrera de aislamiento reproductivo (Widmer et al., 2009; Givnish, 2010).

Los mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización, como el aislamiento temporal y floral se estima que son el doble de efectivos que las barreras post-polinización y que desempeñan un papel más significativo para mantener la integridad de las especies (Coyne & Orr, 1998; Ramsey et al., 2003; Kay, 2006; Martin & Willis, 2007; Lowry et al., 2008). Generalmente la eficiencia de los mecanismos de aislamiento reproductivo es complementado de forma secuencial en cada etapa en que se presentan las barreras reproductivas e impiden el flujo genético que no fue eliminado por las barreras previas (Coyne & Orr, 1989; Widmer et al., 2009). En el caso de los mecanismos post-polinización, para algunos grupos de plantas se encontró que son más fuertes conforme aumenta la distancia genética (filogenética) entre las especies (Moyle et al., 2004; Scopece et al., 2007; Widmer et al., 2009).

Las diferencias en la efectividad de los mecanismos de aislamiento pueden ser la razón de la diversidad en el tipo de barreras, ya que pueden presentarse de forma completa o incompleta (Grant, 1994b; Yang et al., 2007). Algunas especies simpátricas incluso pueden presentar mecanismos de aislamiento reproductivo muy fuertes en una zona y en otras áreas con otras poblaciones es posible que estas barreras estén ausentes permitiendo la hibridación, como resultado de alteraciones ambientales o ecológicas locales (Grant, 1993). En la actualidad, se conocen una serie de métodos indirectos (no estandarizados) conocidos como *Índices de Aislamiento Reproductivo* (RI), que tratan de estimar cuánto flujo genético se reduce por una barrera reproductiva y que al cuantificarse en conjunto permiten conocer la contribución total al aislamiento de las barreras pre- y post-polinización (Coyne & Orr, 1989; Ramsey et al., 2003; Sobel & Chen, 2014).

Dentro del grupo de las angiospermas, Bromeliaceae Juss., es una familia de hierbas monocotiledóneas con un alto potencial de radiación adaptativa, exclusiva de América Tropical y Subtropical (Benzing, 2000), para la cual se estima su diversidad en alrededor de 3679 especies en 79 géneros y ocho subfamilias (Gouda & Butcher, 2021). La familia Bromeliaceae presenta una gran diversidad de morfologías florales (Givnish et al., 2011) que se refleja en la variedad de sus síndromes de polinización (Benzing, 2000; Kessler & Krömer, 2000; Krömer, Kessler, Lohaus, & Schmidt-Lebuhn, 2008).

En Bromeliaceae se ha reconocido, como en otros grupos de angiospermas (Campbell & Aldridge, 2006) su capacidad de hibridación interespecífica y de formación de híbridos estériles intergenéricos (Smith & Downs, 1974; Benzing, 2000). La hibridación ha sido una fuente importante en la diversidad morfológica de las bromelias (Gardner, 1984; Schulte et al., 2010; Goetze et al., 2017) y ha contribuido en los procesos de especiación del grupo (Schulte et al., 2010; Jabaily & Sytsma, 2013). El mantenimiento de una alta diversidad en las bromeliáceas implica que estas plantas exhiben diferentes mecanismos de aislamiento reproductivo para mantener la integridad genética de las especies. El valor comercial de las bromelias como plantas ornamentales ha promovido el desarrollo y cultivo de híbridos artificiales, sugiriendo que la incompatibilidad genética interespecífica es un mecanismo de aislamiento reproductivo poco frecuente en la familia (Erdtman & Praglowski, 1974). Algunos autores han propuesto que las barreras reproductivas pre-polinización son débiles entre las bromelias (Wendt, Coser, Matallana, & Guilherme, 2008), sin embargo, la hibridación de forma natural rara vez se ha documentado (Smith & Downs, 1974; Gardner, 1984; Benzing, 2000; De Sousa et al., 2007; Neri et al., 2017). Lo anterior sugiere, entonces, que en



Bromeliaceae las barreras pre-polinización actúan de manera eficiente (Smith & Downs, 1974; Benzing, 2000; Lowry et al., 2008); sin embargo, no se han estimado apropiadamente.

En las angiospermas cuando se estudia la coexistencia entre plantas generalmente se utilizan especies hermanas, aunque es también posible seleccionar una muestra de especies que represente un clado (Weber & Strauss, 2016). El género *Werauhia* J.R. Grant (subfamilia Tillandsioideae) es un grupo de bromelias con una diversificación de especies bastante reciente (5 Ma) (Givnish et al., 2011) en la historia evolutiva de la familia y se considera un grupo monofilético (Barfuss et al., 2005). *Werauhia* se caracteriza porque la gran mayoría de sus especies comparten el mismo síndrome de polinización por murciélagos (quiropterofilia) (Utley, 1983; Grant, 1995). La selección inicial divergente en el género pudo haber acumulado la suficiente diferenciación de rasgos para el establecimiento de barreras reproductivas (Givnish, 2010) que dieron origen a una gran variedad de especies que se concentran actualmente en la Cordillera Volcánica Central y de Talamanca entre Costa Rica y el oeste de Panamá (Grant, 1995). Al compartir el mismo tipo de polinizador se esperaría encontrar entre especies simpátricas de *Werauhia* mecanismos de aislamiento reproductivo fuertes que permitan la coexistencia de las especies y el mantenimiento de la diversidad de especies del género.

Con el fin de comprender cómo se mantiene la coexistencia reproductiva en especies congéneres simpátricas de bromelias se examinó la fuerza y contribución de diferentes mecanismos de aislamiento reproductivo en un grupo de especies del género *Werauhia* (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda*) en un bosque montano bajo en Costa Rica. Se estimó la magnitud de los siguientes mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización: (i) barreras temporales relacionadas con la fenología floral poblacional y (ii) barreras florales mecánicas; además de las barreras de aislamiento post-polinización: (i) pre-cigóticos relacionados con los sistemas de incompatibilidad inter-específica y (ii) post-cigóticos relacionados con la producción y la viabilidad de semillas híbridas.

## **Materiales y métodos**

### Sitio de estudio

El estudio se realizó en la Zona Protectora Cerros de La Carpintera, una pequeña formación montañosa en el Valle Central de Costa Rica, entre 1500-1900 msnm y situado entre las coordenadas geográficas 9° 52'–9° 54" N y 83° 57' – 84° 00' O (INGCR, 1981). Esta área protegida se encuentra entre las provincias de Cartago (cantones de Cartago y La Unión) y San José (Curridabat y Desamparados) y abarca un área de 2396 hectáreas (35% bosque primario y un 57% bosque secundario) (Sánchez et al., 2008). El promedio anual de precipitación es de 1839.2 mm y de temperatura 16.1°C, se presenta una estación seca bien definida que va desde diciembre hasta abril (Ríos & Cascante-Marín, 2017). Según la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1966), en las partes altas se presentan Bosque Húmedo y Muy Húmedo Montano Bajo (Sánchez et al., 2008). En el sitio se reconoce una gran variedad de especies de la familia Bromeliaceae (29 especies), entre los que destaca el género *Werauhia* por su abundancia y diversidad (8 especies) y cuyas poblaciones son importantes para la conservación de estas especies en el país (Sánchez et al., 2008).

### Especies de estudio

Se seleccionaron cuatro especies: *Werauhia ampla* (L. B. Sm.) J. R. Grant, *W. nephrolepis* (L. B. Sm. & Pittendr.) J. R. Grant, *W. pedicellata* (Mez & Wercklé) J. R. Grant, y *W. subsecunda* (Wittm.) J. R. Grant (Fig. 1). Estas especies representan parte de la variedad floral del género ya que pertenecen a la sección *Werauhia* de inflorescencias simples (*W. ampla* y *W. subsecunda*) y la sección *Jutleya* con inflorescencias compuestas (*W. nephrolepis* y *W. pedicellata*), además de ser las más abundantes en el área de estudio. En Costa Rica, se distribuyen en zonas montañosas entre 1000 a 2750 m (Morales, 2003). El género *Werauhia* se distingue principalmente por poseer anthesis nocturna, coloración floral poco llamativa, pétalos con apéndices basales de forma dactiloide con el ápice dividido y un estigma de forma cupular sin papilas (Grant, 1995). Son plantas de hábito holo-epífito, de hojas arrosetadas que forman un tanque, flores bisexuales, con simetría bilateral, pétalos separados, de coloración comúnmente blanca, crema o verdosa, ovario súpero y con un débil aroma fétido (Grant, 1995; Morales, 2003). Los frutos son cápsulas dehiscentes de numerosas semillas con apéndices plumosos que se dispersan por el viento (Morales, 2003). La morfología y comportamiento floral de las especies

de estudio, así como observaciones de visitantes florales, confirman el síndrome de polinización por murciélagos (quiropterofilia) en las especies seleccionadas (ver cap. II).

### Índices de Aislamiento Reproductivo (RI)

Para cuantificar el grado de aislamiento reproductivo entre las cuatro especies de *Werauhia*, a partir de datos recopilados en el campo, pruebas experimentales en plantas trasladadas a un invernadero en el sitio de estudio y pruebas aplicadas en un laboratorio de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica (UCR), se estimó una serie de *Índices de aislamiento reproductivo* (RI) relacionados con: la fenología floral, tamaño de las flores y posición de las estructuras reproductivas, compatibilidad inter-específica, producción y viabilidad de semillas híbridas.

### Mecanismo de Aislamiento Reproductivo Pre-polinización

#### Aislamiento temporal: fenología floral

Para determinar los patrones de fenología floral y el grado de traslape reproductivo entre las especies de estudio, se seleccionaron 10 puntos de muestreo con alta densidad de bromelias y ubicados entre 1650 – 1780 m (Fig. 2). Los puntos de muestreo se visitaron quincenalmente para realizar los censos de fenología durante el periodo de octubre 2018 a julio 2019 (*W. ampla* 220 individuos, 69 *W. nephrolepis*, 97 *W. pedicellata* y 97 *W. subsecunda*) y entre enero a julio 2021 (*W. ampla* 197 individuos, 374 *W. nephrolepis*, 382 *W. pedicellata* y 155 *W. subsecunda*). Para cada especie se documentó el número de individuos en estado reproductivo (presencia de flores), para así determinar el periodo reproductivo y los picos de floración. El *Índice de aislamiento reproductivo por efecto de fenología floral* (RI<sub>F</sub>) se calculó combinando ambos periodos de fenología mediante la fórmula propuesta por Martin & Willis (2007) y utilizando la hoja de cálculo en Excel proporcionada en el material suplementario (Cuadro 3) de Lowry et al. (2008). Este índice mide la magnitud de la asincronía floral como una barrera para la formación de híbridos entre pares de especies y contempla las diferencias en el tamaño de muestra (Martin & Willis, 2007). Un valor igual a cero indica ausencia de barreras reproductivas, mientras que un valor igual a 1 corresponde a aislamiento reproductivo completo.

### Aislamiento floral mecánico: morfología floral

En una muestra fresca de 33 flores recién abiertas para *W. subsecunda* (20 plantas), 31 flores *W. nephrolepis* (15 plantas), 30 flores para *W. ampla* (15 plantas) y 30 flores para *W. pedicellata* (10 plantas), se tomaron las siguientes mediciones sobre la morfología floral: (i) longitud de la corola, (ii) diámetro de la boca de la corola, (iii) longitud de los estambres y (iv) longitud del pistilo. Se tomaron imágenes digitales de los aspectos relevantes de la morfología floral, de manera que muestran la variación y dimensiones de estas (Shivanna & Tandon, 2014) (Fig. 1). Para determinar las similitudes morfológicas florales de las especies se aplicó un análisis de agrupamiento de componentes principales (PCA) con el paquete *FactoMineR* (Lê et al., 2008) y se visualizó con *ggplot2* (Wickham, 2016) del programa R (R Core Team, 2019). Como parte de la interpretación de los mecanismos de aislamiento floral mecánico de las especies, se consideró la variación en la posición de las estructuras reproductivas (estigma y anteras) (ver cap. II). Si las especies compartían la misma posición de las estructuras reproductivas se asumió un valor de *Índice de aislamiento reproductivo mecánico floral* (RI<sub>M</sub>) igual a 0, pero si la posición de las estructuras reproductivas entre las especies no era la misma (dorsal o superior *versus* lateral) se asumió un valor de RI<sub>M</sub> igual a 1 y que se interpreta como aislamiento reproductivo completo, ya que la deposición de polen ocurriría en diferentes partes del cuerpo del polinizador y no habría coincidencia con la posición del estigma en la otra especie (Fig. 1A, 1D, 1G, 1J).

### Mecanismos de Aislamiento Reproductivo Post-polinización

Para calcular la fuerza de aislamiento reproductivo de las barreras de tipo post-polinización, los índices correspondientes a la incompatibilidad inter-específica (barrera pre-cigótica) y producción y viabilidad de semillas híbridas (barreras post-cigóticas), se calcularon a partir de la fórmula  $RI_{4C} = 1 - 2(H / H + C)$ , propuesta por Sobel & Chen (2014). En donde, H = eventos hetero-específicos (porcentaje de frutos, semillas o germinación de semillas de cruces manuales inter-específicos), y C = eventos con-específicos (porcentaje de frutos, semillas o germinación de semillas de cruces manuales intra-específicas). El valor de RI<sub>4C</sub> indica la cantidad de flujo genético inter-específico, donde -1 indica presencia de flujo de polen inter-específico (ausencia de barreras), 0 indica flujo de polen aleatorio y 1 indica aislamiento completo al flujo de genes entre especies. Los datos sobre los eventos con-específicos (polinizaciones cruzadas manuales) se obtuvieron a partir de información previa recopilada sobre los sistemas reproductivos sexuales de las especies de estudio (ver cap. II).

### Aislamiento pre-cigótico: incompatibilidad inter-específica

Para establecer si existe aislamiento post-polinización de tipo pre-cigótico se calculó el *Índice de aislamiento reproductivo por Incompatibilidad inter-específica* (RI<sub>I</sub>), siguiendo la fórmula anteriormente descrita y a partir de la aplicación de polinizaciones manuales inter-específicas en un total de 67 plantas (18 *W. ampla*, 19 *W. pedicellata* y 29 *W. subsecunda*), en el periodo de noviembre 2018 a mayo 2019. Estas especies fueron las que mostraron traslape fenológico floral y podrían potencialmente entrecruzarse. Las plantas se mantuvieron en un invernadero con un área de 30 m<sup>2</sup> (5 × 6), ubicado en el sitio de estudio en las instalaciones del Campo Escuela Iztarú de la Asociación de Guías y Scouts de Costa Rica. Las polinizaciones inter-específicas se realizaron de forma recíproca. En las flores receptoras de polen se removieron cuidadosamente las anteras (emasculación) antes de estar dehiscentes y para evitar contaminación del estigma, se conservaron hasta el momento de realizar la polinización manual una vez que se observó el estigma receptivo (presencia de líquido estigmático) en la planta receptora del polen. El polen de la especie donadora se aplicó en cantidad suficiente sobre el estigma receptivo utilizando una espátula de metal. El éxito reproductivo de las plantas manipuladas se interpretó como el porcentaje de frutos producidos a partir del total de flores utilizadas en las polinizaciones manuales inter-específicas y polinizaciones manuales intra-específicas. Para calcular el índice respectivo, se utilizaron los resultados de las polinizaciones manuales intra-específicas descritas en el Capítulo II.

### Aislamiento post-cigótico: producción y viabilidad de semillas

Para determinar la existencia de barreras de tipo post-cigótico, se estimó el *Índice de aislamiento reproductivo por producción de semillas* (RI<sub>S</sub>) a partir del promedio de semillas por fruto producidas por las polinizaciones manuales interespecíficas (explicado en el párrafo anterior) e intra-específicas (ver cap. II) y siguiendo la fórmula RI<sub>4C</sub> antes mencionada de Sobel & Chen (2014). De forma similar, se calculó el *Índice de aislamiento reproductivo por viabilidad de semillas* (RI<sub>V</sub>), para el cual en condiciones de laboratorio se germinaron 480 semillas distribuidas en 12 réplicas con 40 semillas cada una. Las semillas de los frutos producidos de cada cruce inter-específico se mezclaron para obtener la muestra total. Cada réplica de semillas se germinó por separado en cajas de Petri sobre papel toalla húmedo y se aplicó un fungicida comercial (Vitabax 40 WP) para reducir la probabilidad de contaminación por hongos. Dos veces por semana se determinó el número de semillas germinadas,

es decir, aquellas que comiencen a desarrollar la radícula. Una vez que no se observaron semillas germinando, usualmente un mes después de iniciado el ensayo, se calculó el porcentaje total de germinación (Shivanna & Tandon, 2014).

### Contribución de cada barrera y aislamiento reproductivo total

La contribución de cada barrera reproductiva al aislamiento (AC, siglas en inglés) es proporcional al orden en cómo se presentan en la vida de la planta. Por lo tanto, las primeras barreras en actuar reducirán un mayor flujo genético, lo que implica una contribución mayor de aislamiento reproductivo (Coyne & Orr, 1989; Ramsey et al., 2003). Para estimar la contribución de aislamiento absoluto y relativo de cada barrera reproductiva, e identificar cuál categoría de barrera de aislamiento (pre-polinización y post-polinización) contribuye más en reducir el flujo genético y determinar el aislamiento reproductivo total entre cada par de especies, se aplicaron las fórmulas propuestas por Sobel & Chen (2014) a partir de la hoja de cálculo en Excel incluida en su publicación como material suplementario.

## **Resultados**

### Aislamiento en la fenología floral

El patrón de floración poblacional de las especies se encuentra dividido estacionalmente; *W. ampla*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda* florecieron en época seca (con un periodo de traslape de tres meses entre las tres especies) y *W. nephrolepis* en época lluviosa (Fig. 3). *Werauhia ampla* y *W. subsecunda* florecieron al inicio del periodo de censos (noviembre-enero), ambas con un patrón de intensidad constante que se extendió por 5 – 6 meses, con picos de floración poco definidos (< 40 % de las observaciones) y que traslaparon en gran parte (Fig. 3). *W. pedicellata* floreció entre marzo y mayo, con un patrón bimodal definido y con un traslape de bajo a moderado con las especies anteriores. La floración de *W. nephrolepis* fue de corta duración (junio-julio), separada de las demás y con un pico muy marcado (Fig. 3). La mayoría de las combinaciones pareadas entre las especies presentó un aislamiento alto por fenología ( $RI_F = 0.50 - 1.00$ ), a excepción de *W. ampla* × *W. subsecunda* que mostraron el mayor traslape de floración en ambos periodos de observación con valores de  $RI_F = 0.20 - 0.25$ , respectivamente (Cuadro 1).

### Aislamiento floral mecánico

*W. ampla* y *W. nephrolepis* presentaron corolas con dimensiones mayores con respecto a *W. subsecunda* y *W. pedicella* (Cuadro S1). Según los resultados del PCA, en los dos primeros componentes principales se concentró la mayor variación con un 98.83 % de la información original. En el componente 1, los rasgos florales que más contribuyen a la variabilidad fueron la longitud de los estambres y del pistilo (Cuadro S2). En el gráfico de dispersión del plano principal (Fig. 4) se muestra que el componente 1 separa claramente a las especies estudiadas en dos grupos según el tamaño de las flores (Kruskal-Wallis:  $\chi^2= 99.88$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.001$ ). Con flores pequeñas se agrupan *W. pedicellata* y *W. subsecunda*, y con flores grandes *W. ampla* y *W. nephrolepis*. En el componente 2 también se encontró separación entre las especies (Kruskal-Wallis:  $\chi^2= 59.11$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.001$ ) particularmente entre los grupos de flores pequeñas *W. pedicellata* y *W. subsecunda*.

Las especies *W. ampla*, *W. nephrolepis* y *W. pedicellata* tienen los estambres y el estigma posicionados en la parte dorsal de la boca de la corola, por lo tanto, el valor de  $RI_M$  entre estas especies es de 0 indicando la probabilidad de flujo de genes. La especie *W. subsecunda* difiere de las demás por presentar su estigma lateral y los estambres en dos grupos (tripletes) igualmente en posición lateral en la boca de la corola. Por lo tanto, los valores de  $RI_M$  de *W. subsecunda* con respecto a las otras especies es igual a 1, que se interpreta como aislamiento reproductivo completo (Cuadro 1) debido a las diferencias en la posición de las anteras y el estigma.

### Aislamiento por incompatibilidad interespecífica y producción de semillas

De las cuatro combinaciones posibles de cruces recíprocos entre las especies que presentaron traslape en su periodo de floración (*W. ampla*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda*), solo la combinación *W. subsecunda* (receptor de polen) y *W. ampla* (donador de polen) produjeron un 54.5 % de frutos (N=33, flores manipuladas). El número de semillas híbridas promedio por fruto ( $n= 6$ ) fue de  $174.6 \pm 70.92$  (desviación estándar) y el promedio de semillas abortadas por fruto fue de  $299.67 \pm 72.25$ . Para los cruces recíprocos: *W. ampla*  $\times$  *W. pedicellata* (fl= 25), *W. ampla*  $\times$  *W. subsecunda* (fl= 29) y *W. pedicellata*  $\times$  *W. ampla* (fl= 22) no se produjeron frutos, por lo que el valor del  $RI_I$  es igual a 1 indicando un aislamiento reproductivo completo. Para la combinación de *W. subsecunda* (receptor de polen)  $\times$  *W. ampla* (donador de polen) los valores por incompatibilidad interespecífica a nivel de frutos y semillas fue  $RI_I = 0.218$  y  $RI_S = 0.569$ , respectivamente (Cuadro 1).

### Aislamiento por viabilidad de semillas

Para el único cruce inter-específico *W. subsecunda* (receptor de polen) × *W. ampla* (donador de polen) que desarrollo semillas híbridas, la capacidad de germinación fue de un 73.1 % (n=480), iniciando la germinación a los cuatro días hasta los 52 días después de la siembra. La curva de germinación (Fig. 5) mostró que los primeros 15 días se alcanzó una proporción muy baja con tan solo el 6 % de las semillas, hasta después de 30 días es que se alcanzó el 50 % de las semillas germinadas, por lo que se debió extender el tiempo de observación de la germinación. Para este cruce, el valor del  $RI_V = 0.15$  indica una baja probabilidad de flujo de genes entre especies (Cuadro 1).

### Contribución de cada barrera y aislamiento reproductivo total

Para las cuatro especies de *Werauhia* se encontró que las barreras pre-polinización presentaron la mayor contribución relativa al aislamiento reproductivo (Fig. 6). Para todas las combinaciones de especies se obtuvo un aislamiento reproductivo total que varía de muy alto a completo ( $AT = 0.97 - 1.00$ ) (Cuadro 1), que indica la ausencia de flujo de genes entre las cuatro especies de estudio.

## **Discusión**

Este es el primer estudio en evaluar de forma sistemática la magnitud de cinco diferentes barreras de aislamiento reproductivo pre- y post-polinización en especies simpátricas de la familia Bromeliaceae que comparten el mismo tipo de polinizador. Estudios previos relacionados con el tema han sugerido que la incompatibilidad inter-específica o incongruencia (Souza et al. 2017), así como la autogamia (Matallana et al., 2010) son mecanismos de aislamiento reproductivo en la familia Bromeliaceae. Los resultados de este estudio sugieren, por el contrario, una mayor relevancia de los mecanismos pre-polinización como barreras al flujo inter-específico de polen entre especies simpátricas del género *Werauhia*.



## Mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización

### Fenología floral

Las diferentes modalidades (constante, bimodal y unimodal) del patrón de floración encontrado para cada *Werauhia* evitaron un traslape significativo en sus picos de floración, además de que estos picos ocurren de forma secuencial o están aislados como en *W. nephrolepis*. La asincronía de los picos de floración es un requisito indispensable para que la fenología sea considerada como un mecanismo de aislamiento reproductivo (Levin, 1971), ya que al encontrarse una baja proporción de los individuos en floración en una de las especies se reduce la probabilidad de que ocurra flujo de polen inter-específico (Martin & Willis, 2007). Otros congéneres en el sitio de estudio como *W. notata* florece en julio y agosto (Cascante-Marín et al., 2017) y *W. haberi* en setiembre y octubre (Cascante-Marín, Trejos, & Morales, 2019) sugiriendo que la fenología es un mecanismo importante en la coexistencia local de las especies del género. Patrones compartidos y secuenciales de floración se han documentado para otros grupos de bromelias simpátricas que comparten otros tipos de polinizadores y en las cuales se encontraron diferencias en los picos de floración entre las especies que compartían periodos florales (Araujo et al., 1994; Buzato et al., 2000; Machado & Semir, 2006; Marques & Lemos, 2008; Santana & Machado, 2010; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez, 2017; Aguilar-Rodríguez, Tschapka, et al., 2019). Lo anterior sugiere que la fenología podría ser un mecanismo de aislamiento preponderante e independiente del mecanismo de polinización en la familia Bromeliaceae.

La variación en los patrones de floración interanual de las especies estudiadas podría afectar la contribución de este carácter al aislamiento reproductivo. En este caso, la estimación del índice de aislamiento por fenología para cada período no altera significativamente la magnitud de la contribución de este factor al aislamiento reproductivo total. La variación en los patrones fenológicos pueden ser el resultado en fluctuaciones climáticas locales o fenómenos climáticos a mayor escala (Mcneilly & Antonovicsf, 1968; Frankie et al., 1974; Marquis, 1988; Elzinga et al., 2007). Otros factores como una menor sincronización entre individuos a nivel poblacional debido a variación genética en ese carácter reproductivo (Baker, 1959; Augspurger, 1983; Primack, 1985), así como un posible comportamiento de floración supra-anual cuando los individuos no florecen cada año, como sucede con ciertos árboles tropicales (Baker, 1959), puede contribuir a la variación temporal de la fenología floral.

Estudios en especies simpátricas cercanamente emparentadas de angiospermas, han encontrado que la fuerza de aislamiento reproductivo que proporciona la fenología floral ha contribuido de forma importante para restringir el cruce inter-específico (Ramírez & Hokche, 2019; Misiewicz et al., 2020; Xu et al., 2020). Las diferencias en los periodos florales, en el proceso de especiación han permitido aislamiento reproductivo para iniciar la divergencia de especies (Christie & Strauss, 2018). No obstante, la fenología floral es una característica reproductiva que puede evolucionar rápidamente (Levin, 2006; Anderson et al., 2012) al adaptarse las especies a su entorno ambiental o ecológico (Mosquin, 1971; Rathcke & Lacey, 1985; Ashton et al., 1988; Cascante-Marín et al., 2017) y mostrar una menor contribución al aislamiento en presencia de otras barreras reproductivas, como diferencias morfológicas florales propias de la divergencia inicial de las especies o al evolucionar las barreras reproductivas post-polinización que permiten mantener los límites entre especies (Christie & Strauss, 2018; Moreira-Hernández & Muchhala, 2019). Esta misma tendencia se observa en las combinaciones de cruces de las *Werauhia* en estudio que presentaron algún grado de traslape de floración con una mayor contribución de las barreras reproductivas posteriores.

### Morfología floral

Entre las cuatro especies existen diferencias en la morfología floral (tamaño de la flor, posición de anteras y estigma) que funcionan como una barrera reproductiva de tipo mecánica y que probablemente opera mediante la deposición del polen en diferentes partes del cuerpo del polinizador (Grant, 1994a). La posición de las anteras y estigma (dorsal versus laterales) impiden la deposición apropiada del polen entre ciertas combinaciones de especies. Aunque las diferencias morfológicas cuantitativas no se pueden interpretar a través de un índice, el PCA separa claramente las especies estudiadas en aquellas con flores pequeñas y flores grandes, lo cual puede influir en la forma como se deposita el polen sobre el polinizador (Grant, 1949, 1994a).

Previamente se documentó (ver cap. II) que las especies de *Werauhia* estudiadas son polinizadas por los murciélagos nectarívoros *Glossophaga soricina* e *Hylonicteris underwoodi*. Considerando la evidencia disponible, en el caso de *W. subsecunda* la deposición de polen se presume ocurre en el hocico (cachetes) de los murciélagos, debido a la posición lateral de las anteras en la boca de la corola, una característica poco común en las especies de *Werauhia* (Utley, 1983). Este carácter floral estaría aislando a *W. subsecunda* de *W. pedicellata*, con la cual comparte un tamaño floral y

presenta cierto traslape en su fenología reproductiva. Por otra parte, *W. ampla* y *W. neprolepis* al tener flores de mayor tamaño y encontrarse las anteras en la parte dorsal de la flor, se asume que la deposición de polen ocurre en la parte superior de la cabeza del murciélago. Sin embargo, la polinización inter-específica estaría impedida por diferencias significativas en sus patrones fenológicos. En el caso de *W. pedicellata* por la posición superior de las anteras y tamaño pequeño de las flores, se presume que el polen se depositaría en la frente del murciélago. El menor tamaño de las flores de *W. pedicellata* y diferencias fenológicas constituyen barreras importantes que evitan el cruzamiento con *W. ampla* y *W. nephrolepis*.

La contribución de la barrera floral mecánico también ha sido importante en otros grupos de angiospermas como, Gesneriaceae, Orobanchaceae, Orchidaceae y Zingiberaceae; que presentan diferentes síndromes de polinización (Kay, 2006; Schiestl & Schluter, 2009; Marín Gómez, 2014; Liang et al., 2018; Lussu et al., 2018; Ramírez-Aguirre et al., 2019). La efectividad del aislamiento mecánico se ha reconocido entre especies simpátricas relacionadas polinizadas por murciélagos; en géneros neotropicales como *Burmeistera* de la familia Campanulaceae (Muchhala & Potts, 2007; Muchhala, 2008) y *Marcgravia* de Macgraviaceae (Tschapka et al., 2006) en las que se ha documentado diferencias florales relacionadas con la longitud y posición de sus estructuras reproductivas que permiten la deposición de polen en diferentes partes del cuerpo del polinizador (Stewart & Dudash, 2016; Moreira-Hernández & Muchhala, 2019). Muchhala (2008) ha sugerido que es más fácil que evolucione este tipo de mecanismos de aislamiento en plantas con quiropterofilia debido al tamaño relativamente mayor de los murciélagos con respecto a otros polinizadores y a la precisión de la posición del polen en el cuerpo del polinizador. En otros estudios sobre bromelias simpátricas emparentadas y polinizadas por colibrís con cierto traslape en su periodo de floración, también se han documentado barreras mecánicas florales que permiten el aislamiento entre especies (Kaehler et al., 2005; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez, 2017), contribuyendo de forma complementaria al aislamiento total (Lowry et al., 2008).

#### Mecanismos de aislamiento post-polinización

#### Incompatibilidad inter-específica y vigor híbrido

La ausencia en la producción de frutos en tres de los cuatro cruces interespecíficos posibles refleja la existencia de incompatibilidad o incongruencia fuerte entre las especies (Vervaeke et al., 2001). En

el caso del cruce entre *W. subsecunda* × *W. ampla* se expresó una incompatibilidad débil y unilateral, cuando *W. subsecunda* actuó como planta materna se registró una producción de frutos por debajo del 50 % y un promedio de semillas abortadas mayor que la producción de semillas híbridas formadas. Barreras reproductivas post-polinización permeables se han documentado también entre especies de géneros de bromelias como *Aechmea* (Bromelioideae), *Pitcairnia* (Pitcairnioideae) y *Vriesea* (Tillandsioideae) (Parton et al., 2001; Wendt et al., 2002; Souza et al., 2017). Otra forma en que se mostró la presencia de barreras post-polinización permeables estuvo relacionada con el vigor de las semillas híbridas al germinar (70 %) ya que la mitad de las semillas alcanzó a germinar hasta después de 30 días. En condiciones naturales este lento crecimiento inicial de los híbridos podría significar una mayor probabilidad de ataque de patógenos (Egli et al., 2010) en una etapa de vida de la planta que es de gran vulnerabilidad. Además, de que los híbridos con un menor crecimiento en relación con otras plantas de cruces intra-específicos podrían mostrar más adelante una desventaja en la competencia por recursos (Vaz Mondo et al., 2013) o en su reproducción (Levin, 1971).

El éxito del único cruce interespecífico entre las especies que presentan un mayor traslape en su periodo de floración, *W. subsecunda* × *W. ampla*, podría explicarse por la relación cercana filogenética entre taxones (Smith & Downs, 1974; Moyle et al., 2004; Souza et al., 2017) que comparten la misma característica de inflorescencias simples y pertenecen a la misma sección *Werauhia* del género, a diferencia de *W. pedicellata* que pertenece a la sección *Jutleya* de inflorescencias compuestas de acuerdo con Grant (1995). Sin embargo, está pendiente de corroborar si las secciones propuestas por Grant reflejan la evolución del grupo y de la cercanía filogenética entre las especies incluidas.

La producción de frutos y semillas entre las dos *Werauhia* de inflorescencias simples solo ocurrió cuando *W. subsecunda* (flores pequeñas) actuaba como receptora de polen y *W. ampla* (flores grandes) actuaba como donadora. Covas & Schnack (1945) explicaron el fenómeno de la incompatibilidad unilateral por medio de la relación positiva entre el tamaño del polen y la longitud del pistilo entre ambas especies, ya que se asume que el grano de polen acumula la cantidad suficiente de recursos para el crecimiento del tubo a través de la longitud del estigma hasta su encuentro con la célula huevo (Delpino, 1867; Levin, 1971; Cruden & Miller-Ward, 1981). El polen de mayor tamaño en *W. ampla* (62 – 75 µm) tendría la capacidad de alcanzar el ovario de *W. subsecunda* (con un pistilo más corto), pero lo contrario no es posible debido a la mayor longitud del pistilo de *W. ampla* y polen

de menor tamaño en *W. subsecunda* (50 – 64  $\mu\text{m}$ ). Sin embargo, también se ha involucrado la profundidad del tamaño del estigma, ya que el grano de polen puede obtener recursos para el crecimiento del tubo polínico a partir del líquido estilar (Darwin, 1877; Cruden, 2009). Stroo (2000) en un estudio recopilatorio sobre plantas polinizadas por murciélagos encontró una correlación positiva entre el tamaño del polen y la longitud del estigma. Este tipo de incompatibilidad unilateral (Lewis & Crowe, 1958) se ha documentado en algunos cruces de bromelias pertenecientes al mismo género (*Aechmea*, *Alcantarea*, *Vriesea*,) o subfamilia (Vervaeke et al., 2001; Matallana et al., 2016; Souza et al., 2017) y en varias familias como: Asteraceae, Caryophyllaceae, Polemoniaceae y Orobanchaceae (Ostenfeld, 1929; Torres, 2000; Campbell et al., 2002; Jürgens et al., 2012; Wang et al., 2016).

#### Otros mecanismos de aislamiento reproductivo

Una barrera de aislamiento temporal relacionada con la floración es el momento en que ocurre la anthesis floral (Levin, 1971). En un estudio previo (ver cap. II) se documentó que en las cuatro especies de *Werauhia* estudiadas la anthesis floral ocurre antes del crepúsculo (entre las 16 y 17:00 h) (ver cap. II), momento en el cual sus polinizadores de hábito nocturno no se encuentran aún activos. Por lo tanto, se considera que el comportamiento de anthesis floral no constituye un mecanismo de aislamiento efectivo para las especies estudiadas.

La autogamia o capacidad de auto-fertilizarse de forma espontánea ha sido propuesta como una barrera de aislamiento reproductivo post-polinización en plantas (Levin, 1971). Para la familia Bromeliaceae, Matallana y colaboradores (2010) han sugerido la autogamia como mecanismo para evitar la hibridación, debido a la alta frecuencia de auto-compatibilidad y autogamia que exhibe este grupo de plantas (ver cap. I), sin embargo, no existe evidencia que respalde esa hipótesis en bromelias. Al contrario, un estudio previo (ver cap. II) sobre los sistemas reproductivos de las especies aquí estudiadas concluyó que la alta capacidad de autogamia se explica mejor como una estrategia de aseguramiento reproductivo y no como un mecanismo de aislamiento reproductivo, debido a que la auto-fertilización ocurre al final de la vida de la flor cuando la oportunidad de exo-cruzamiento ha ocurrido.

La poliploidía (aumento del juego de cromosomas) es un mecanismo de aislamiento reproductivo (Schluter, 2014), que también podría evitar la formación de progenie híbrida. La falta

de estabilidad entre los números de cromosomas mitóticos y meióticos es frecuentemente reportado como causa de poliploidía en algunos géneros de Bromeliaceae (Brown & Gilmartin, 1986). Se ha informado de poliploidía en los géneros: *Dyckia*, *Fosterella*, (Pitcairnioideae), *Guzmania*, *Tillandsia* (Tillandsioideae), *Bromelia*, *Nidularium*, *Pseudananas* y *Ananas comosus* (Bromelioideae) (McWilliams, 1974; Brown & Gilmartin, 1986) y parece haber sido importante en la evolución de la familia (Brown & Gilmartin, 1986; Gitaí et al., 2005). Para el género *Werauhia* no hay información disponible al respecto.

### **Conclusiones**

La estimación de la fuerza y contribución de los mecanismos de aislamiento reproductivo es de gran importancia para comprender los procesos de especiación y mantenimiento de la integridad genética de las especies. Para las cuatro especies de *Werauhia* estudiadas se encontró un aislamiento reproductivo muy alto o completo entre las poblaciones. La fenología floral tuvo una contribución importante al aislamiento reproductivo en la mayoría de los casos, pero cuando está contribuyó levemente, el aporte de la barrera floral mecánica completo el aislamiento total entre las especies. Las barreras de aislamiento pre-polinización además de contribuir mayormente al aislamiento total entre las especies, evitan la interferencia en el estigma con polen heteroespecífico (que reduce la posibilidad de crecimiento de tubos polínicos conoespecíficos) y previenen el descuento de polen y semillas que si ocurre cuando actúan las barreras post-polinización (Hopkins, 2013). Por lo anterior, las barreras pre-polinización, cumplen un rol de mayor significancia en el aislamiento reproductivo de las especies de estudio. Estos resultados contradicen sugerencias previas que en la familia Bromeliaceae las barreras reproductivas pre-polinización eran débiles (Wendt, Coser, Matallana, & Guilherme, 2008). Los mecanismos de aislamiento reproductivo pre-polinización fueron los más importantes en la reducción del flujo inter-específico de genes, confirmando el patrón antes observado en otros grupos de angiospermas sobre la mayor contribución de aislamiento de este tipo de barreras (Coyne & Orr, 1998; Ramsey et al., 2003; Kay, 2006; Martin & Willis, 2007; Lowry et al., 2008). Cuando las barreras reproductivas pre-polinización no contribuyeron por completo al aislamiento, las barreras post-polinización completaron dicho aislamiento.

La cuantificación del aislamiento reproductivo ha sido escasamente documentada en especies tropicales (Baack et al., 2015; Misiewicz et al., 2020; Munguía-Rosas & Jácome-Flores, 2020; Arida et al., 2021), lo que implica vacíos de investigación sobre todo para especies con sistemas de

polinización consideradas especializados (aves y murciélagos). Además, a nivel de familia la comparación de la efectividad de barreras de aislamiento entre grupos de Bromeliaceae es una tarea complicada, ya que no existen investigaciones que midan la fuerza de los mecanismos de aislamiento reproductivo entre poblaciones simpátricas de diferentes especies bajo una metodología estandarizada, como ocurre actualmente con otros grupos de angiospermas (Sobel & Chen, 2014). Para comprender los procesos de especiación y mantenimiento de la gran diversidad de especies en la familia Bromeliaceae, es de gran importancia que investigaciones futuras incluyan una estimación adecuada y detallada de cada barrera reproductiva y su contribución al aislamiento reproductivo total.

## Literatura citada

- Ackerman, J. (1986). Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana*, 9(1), 52–60.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., García-Franco, J., & Macswiney G. (2015). From dusk till dawn: Nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology*, 18(1), 37–45.
- Aguilar-Rodríguez, P., Krömer, T., & Tschapka, M. (2019). Bat pollination in Bromeliaceae. *Plant Ecology & Diversity*, 12(1), 1–19.
- Aguilar-Rodríguez, P., Tschapka, M., García-Franco, J., Krömer, T., & MacSwiney, M. C. (2019). Bromeliads going batty: pollinators partitioning among sympatric chiropterophilous Bromeliaceae. *AoB Plants*, 11(2), 1–19.
- Alboukadel, K. (2019). *ggpubr: “ggplot2” Based publication ready plots*. (R package version 0.2.1). <https://cran.r-project.org/package=ggpubr>
- Anderson, E. (1953). Introgressive hybridization. *Biological Reviews*, 28(3), 280–307. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1953.tb01379.x>
- Anderson, J. T., Inouye, D. W., McKinney, A. M., Colautti, R. I., & Mitchell-Olds, T. (2012). Phenotypic plasticity and adaptive evolution contribute to advancing flowering phenology in response to climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1743), 3843–3852. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1051>
- Araujo, A. C., Fischer, E. A., & Sazima, M. (1994). Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 17(2), 113–118.
- Arida, B., Scopece, G., Machado, R., Moraes, A., Forni-Martins, E., & Pinheiro, F. (2021). Reproductive barriers and fertility of two neotropical orchid species and their natural hybrid. *Evolutionary Ecology*, 35, 41–64. <https://doi.org/10.1007/s10682-020-10095-5>
- Arnold, M. (1997). *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press.
- Ashman, T., Knight, T., Steets, J., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, M., Mazer, S., Mitchell, R., Morgan, M., & Wilson, W. (2004). Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and Evolutionary Causes and Consequences. *Ecology*, 85(9), 2408–2421.
- Ashton, P. S., Givnish, T. J., & Appanah, S. (1988). Staggered Flowering in the Dipterocarpaceae: New Insights Into Floral Induction and the Evolution of Mast Fruiting in the Aseasonal Tropics.



- The American Naturalist*, 132(1), 44–66.
- Augspurger, C. (1983). Phenology, Flowering Synchrony, and Fruit Set of Six Neotropical Shrubs. *Biotropica*, 15(4), 257–267.
- Baack, E., Melo, M. C., Rieseberg, L. H., & Ortiz-Barrientos, D. (2015). The origins of reproductive isolation in plants. *The New Phytologist*, 207(4), 968–984. <https://doi.org/10.2307/newphytologist.207.4.968>
- Baker, H. G. (1955). Self-compatibility and establishment after “Long-Distance” dispersal. *Evolution*, 9, 347–349.
- Baker, H. G. (1959). Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 24(1), 177–191. <https://doi.org/10.1101/SQB.1959.024.01.019>
- Barfuss, M. H. J., Samuel, R., Till, W., & Stuessy, T. F. (2005). Phylogenetic relationships in subfamily tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany*, 92(2), 337–351. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.337>
- Barfuss, M. H. J., Till, W., Leme, E. M. C., Pinzón, J. P., Manzanares, J. M., Halbritter, H., Samuel, R., & Brown, G. K. (2016). Taxonomic revision of bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. *Phytotaxa*, 279(1), 1–97. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.279.1.1>
- Barmantlo, S. H., Meirmans, P. G., Luijten, S. H., Triest, L., & Oostermeijer, J. G. B. (2018). Outbreeding depression and breeding system evolution in small, remnant populations of *Primula vulgaris*: consequences for genetic rescue. *Conservation Genetics*, 19(3), 545–554.
- Barrett, S. C. H. (2003). Mating strategies in flowering plants: the outcrossing – selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions Royal Society London B Biological Science*, 358(1434), 991–1004.
- Barrett, S. C. H. (2010). Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical Transactions Royal Society London Biology Science*, 365(1), 351–368.
- Barrett, S. C. H. (2013). The evolution of plant reproductive systems: How often are transitions irreversible? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1765), 1–9.
- Barrett, S. C. H. (2014). Evolution of mating systems: outcrossing versus selfing. In J. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 356–362). Princeton University Press.
- Barrios, Y., & Ramírez, N. (2008). Depresión por exogamia y biología reproductiva de *Nymphaea ampla* (Salisb.) DC. (Nymphaeaceae) DC. (Nymphaeaceae). *Acta Botánica Venezolánica*, 31(2),

539–555.

- Bawa, K. S. (1974). Breeding Systems of Tree Species of a Lowland Tropical Community. *Evolution*, 28(1), 85.
- Bawa, K. S., Bullock, S. H., Perry, D. R., Coville, R. E., & Grayum, M. H. (1985). Reproductive Biology of Tropical Lowland Rain Forest Trees. II. Pollination Systems. *American Journal of Botany*, 72(3), 346–356.
- Becerra, J., & Lloyd, D. (1992). Competition-dependent abscission of self-pollinated flowers of *Phormium tenax* (Agavaceae): a second action of self-incompatibility at the whole flower level. *Evolution*, 46(2), 458–469.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press.
- Benzing, D. (2008). *Vascular epiphytes : general biology and related biota*. Cambridge University Press.
- Bianchi, M., Gibbs, P., Prado, D., & Vespisrini, J. L. (2000). Studies on the breeding systems of understory species of a Chaco woodland in NE Argentina. *Flora*, 195, 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30992-1](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30992-1)
- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1986). Chromosomes of the Bromeliaceae. *Selbyana*, 9(1), 88–93.
- Brown, G. K., & Gilmartin, A. J. (1989). Stigma Types in Bromeliaceae-A Systematic Survey. *Systematic Botany*, 14(1), 110–132.
- Brys, R., Geens, B., Beeckman, T., & Jacquemyn, H. (2013). Differences in dichogamy and herkogamy contribute to higher selfing in contrasting environments in the annual *Blackstonia perfoliata* (Gentianaceae). *Annals of Botany*, 111(1), 651–661. <https://doi.org/10.1093/aob/mct031>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2011). Variation in the functioning of autonomous self-pollination, pollinator services and floral traits in three *Centaurium* species. *Annals of Botany*, 107(1), 917–925. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr032>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2012). Effects of human-mediated pollinator improv on floral traits and mating patterns in a shor an experimental approach. *Functional Ecology*, 26(1), 189–197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01923.x>
- Brys, R., van Cauwenberghe, J., & Jacquemyn, H. (2016). The importance of autonomous selfing in preventing hybridization in three closely related plant species. *Journal of Ecology*, 104(2), 601–610. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12524>
- BSI. (2020, February 20). *Taxonomy*. <https://www.bsi.org/new/taxonomy/>
- Busch, J. W. (2005). The Evolution of Self-Compatibility in Geographically Peripheral Populations

- of *Leavenworthia alabamica* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 92(9), 1503–1512.
- Busch, J. W., & Delph, L. F. (2012). The relative importance of reproductive assurance and automatic selection as hypotheses for the evolution of self-fertilization. *Annals of Botany*, 109(3), 553–562. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr219>
- Bush, S. P., & Beach, J. H. (1995). Breeding systems of epiphytes in a tropical montane wet forest. *Marie Selby Botanical Gardens Inc.*, 16(2), 155–158.
- Buzato, S., Sazima, M., & Sazima, I. (2000). Hummingbird-Pollinated Floras at Three Atlantic Forest Sites. *Biotropica*, 32(4b), 824–841.
- Cáceres, D. A., Schulte, K., Schmidt, M., & Zizka, G. (2013). Diversity and levels of endemism of the Bromeliaceae of Costa Rica – an updated checklist. *Phytokeys*, 29, 17–61.
- Campbell, D., & Aldridge, G. (2006). Floral biology of hybrid zones. In L. Harder & S. Barret (Eds.), *Ecology and Evolution of flowers* (pp. 326–353). Oxford University Press.
- Campbell, D., Waser, N. M., & Pederson, G. T. (2002). Predicting patterns of mating and potential hybridization from pollinator behavior. *The American Naturalist*, 159(5), 438–450.
- Campbell, M., McKenzie, J. E., Sowden, A., Katikireddi, S. V., Brennan, S. E., Ellis, S., Hartmann-Boyce, J., Ryan, R., Shepperd, S., Thomas, J., Welch, V., & Thomson, H. (2020). Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: Reporting guideline. *BMJ*, 368, 1–5.
- Cascante-Marín, A., de Jong, M., Borg, E. D., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2006). Reproductive Strategies and Colonizing Ability of Two Sympatric Epiphytic Bromeliads in a Tropical Premontane Area. *International Journal of Plant Sciences*, 167(6), 1187–1195.
- Cascante-Marín, A., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., & den Nijs, J. C. M. (2005). Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Premontane tropical forest. *Plant Biology*, 7, 203–209. <https://doi.org/10.1055/s-2005-837584>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Alvarado, R. (2017). Association between rainfall seasonality and the flowering of epiphytic plants in a Neotropical montane forest. *Biotropica*, 49(6), 912–920. <https://doi.org/10.1111/btp.12478>
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., Madrigal, R., & Fuchs, E. J. (2019). Genetic diversity and reproductive biology of the dioecious and epiphytic bromeliad *Aechmea mariae-reginae* (Bromeliaceae) in Costa Rica: Implications for its conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192(4), 773–786.
- Cascante-Marín, A., Trejos, C., & Morales, J. (2019). First description of the nocturnal flowers of the little-known *Werauhia haberi* (Tillandsioideae) and notes about its natural history. *Journal of*

- the Bromeliad Society International*, 69(1), 1–9.
- Chaparro, H. (2005). Biología reproductiva de la bromelia terrestre *Puya trianae* en el Parque Chingaza. In *Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la Cordillera Oriental de Colombia*. (pp. 273–286). Universidad Nacional de Colombia.
- Charlesworth, D., & Charlesworth, B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Vol. 18, 18(1), 237–268.
- Cheptou, P. O. (2019). Does the evolution of self-fertilization rescue populations or increase the risk of extinction? *Annals of Botany*, 123(2), 337–345.
- Christie, K., & Strauss, S. Y. (2018). Along the speciation continuum: Quantifying intrinsic and extrinsic isolating barriers across five million years of evolutionary divergence in California jewelflowers. *Evolution*, 72(5), 1063–1079. <https://doi.org/10.1111/evo.13477>
- Covas, G., & Schnack, B. (1945). El valor taxonómico de la relación: " Longitud del pistilo : Volumen del grano de polen ". *Darwiana*, 7(1), 80–90.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1989). Patterns of Speciation in *Drosophila*. *Evolution*, 43(2), 362–381.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (1998). Evolution of Biological Diversity: From Population Differentiation to Speculation. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 353(1366), 287–305.
- Cruden, R. (2009). Pollen grain size, stigma depth, and style length: the relationships revisited. *Plant Systematic Evolution*, 278(1), 223–238. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0142-8>
- Cruden, R., & Lyon, D. (1989). Facultative xenogamy: examination of a mixed mating system. In J. Bock, Y. Linhart, G. Stebbins, & C. Turner (Eds.), *The evolutionary ecology of plants*. CRC Press.
- Cruden, R., & Miller-Ward, S. (1981). Pollen-Ovule Ratio, Pollen Size, And The Ratio Of Stigmatic Area To The Pollen-Bearing Area Of The Pollinator: An Hypothesis. *Evolution*, 35(5), 964–974. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1981.tb04962.x>
- Cunningham, S. A. (2000). Depressed Pollination in Habitat Fragments Causes Low Fruit Set. *Proceedings: Biological Sciences*, 267(1448), 1149–1152.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life: Vol. 1859*. John Murray,.
- Darwin, C. (1876). *The Effects of Cross and Self-fertilisation in the Vegetable Kingdom* (Second). John Murray, Albemarle Street.
- Darwin, C. (1877). *The different forms of flowers of plants of the same species*. John Murray, Albemarle Street.
- De Sousa, L., Wendt, T., Brown, G., Tuthill, D., & Evans, T. (2007). Monophyly and Phylogenetic

- Relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) Based on Morphology and Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*, 32(2), 264–270.
- Delpino, F. (1867). Sull'opera, la distribuzione dei sessi nelle piante e la legge che osta alla perennità della fecondazione consanguinea. *Atti Della Societa Italiana Di Scienze Naturali*, 10(1), 272–303.
- Dressler, R. (1990). *The Orchids: natural history and classification*. Harvard University Press.
- Durán, F. J. (2013). Murciélagos (Chiroptera) y ratones silvestres (Rodentia) de la zona Protectora Cerros de La Carpintera, Costa Rica. *Brenesia*, 79(1), 53–57.
- Eckert, C. G., & Herlihy, C. R. (2004). Using a cost-benefit approach to understand the evolution of self-fertilization in plants: The perplexing case of *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). *Plant Species Biology*, 19(3), 159–173. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2004.00112.x>
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Dart, S. (2006). Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. In L. Harder & S. Barrett (Eds.), *Ecology and Evolution of Flowers* (First, pp. 183–203). Oxford University Press.
- Egli, D. B., Hamman, B., & Rucker, M. (2010). Seed Vigor and Uniformity of Seedling Emergence in Soybean. *Seed Technology*, 32(2), 87–95.
- Elzinga, J. A., Atlan, A., Biere, A., Gigord, L., Weis, A. E., & Bernasconi, G. (2007). Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(8), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.05.006>
- Erdtman, G., & Praglowski, J. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). A note of pollen morphology. *Flora Neotropica*, 14(1), 28–39.
- Faegri, K., & van der Pijl, L. (1979). *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon.
- Fenster, C. B., & Martén-Rodríguez, S. (2007). Reproductive assurance and the evolution of pollination specialization. *International Journal of Plant Sciences*, 168(2), 215–228.
- Ferrer, M. M., Good-Avila, S. V., Montaña, C., Domínguez, C. A., & Eguiarte, L. E. (2009). Effect of variation in self-incompatibility on pollen limitation and inbreeding depression in *Flourensia cernua* (Asteraceae) scrubs of contrasting density. *Annals of Botany*, 103(7), 1077–1089.
- Ferrer, M. M., & Good, S. V. (2012). Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. *Annals of Botany*, 110(3), 535–553.
- Fleming, T., Geiselman, C., & Kress, W. (2009). The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104(1), 1017–1043.
- Fleming, T., Nuñez, R., Da Silveira, L., & Sternberg, L. (1993). Seasonal Changes in the Diets of Migrant and Non-Migrant Nectarivorous Bats as Revealed by Carbon Stable Isotope Analysis.

- Oecologia*, 94(1), 72–75.
- Frankie, G., Baker, H., & Opler, P. (1974). Tropical Plant Phenology: Applications for studies in community ecology. In H. Lieth (Ed.), *Phenology and Seasonality Modeling. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 8. (pp. 287–298). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-51863-8_24)
- Frick, W. F., Kingston, T., & Flanders, J. (2020). A review of the major threats and challenges to global bat conservation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1469(1), 5–25.
- Fryxell, P. A. (1957). Mode of Reproduction of Higher Plants. *The Botanical Review*, 135–233.
- Gardner, C. (1982). *A systematic study of tillandsia subgenus tillandsia*. Universidad Texas A & M.
- Gardner, C. (1984). Natural hybridization in “Tillandsia” subgenus “Tillandsia.” *Selbyana*, 7(2), 380–393.
- Gentry, A., & Dodson, C. (1987). Diversity and Biogeography of Neotropical Vascular Epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74(2), 205–233.
- Gitaí, J., Horres, R., & Benko-Iseppon, A. M. (2005). Chromosomal features and evolution of Bromeliaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 253(1–4), 65–80. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0306-8>
- Givnish, T. J. (2010). Ecology of plant speciation. *Taxon*, 59(5), 1326–1366.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Andrew, J., Smith, C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2014). Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 71(1), 55–78.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Smith, J. A. C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98(5), 872–895.
- Givnish, T. J., Millam, K. C., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2007). Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography of Bromeliaceae Inferred from *ndhF* Sequence Data. *Aliso*, 23(1).
- Godoy, D. R. F. M., Lenzi, M., Ferreira, B. H. D. S., Da Silva, L. V., Zanella, C. M., & Paggi, G. M. (2018). High genetic diversity and moderate genetic structure in the self-incompatible, clonal *Bromelia hieronymi* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 187(4), 672–688.

- Goetze, M., Zanella, C. M., Palma-Silva, C., Büttow, M. V., & Bered, F. (2017). Incomplete lineage sorting and hybridization in the evolutionary history of closely related, endemic yellow-flowered *Aechmea* species of subgenus *Orgiesia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, *104*(7), 1073–1087.
- Gomes, A. C., Ferreira, B. H. S., Souza, C. S., Arakaki, L. M. M., Aoki, C., Paggi, G. M., & Sigrist, M. R. (2020). Adaptive response of extreme epiphyte *Tillandsia* species (Bromeliaceae) is demonstrated by different sexual reproduction strategies in the Brazilian Chaco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *192*, 840–854.
- Gomulkiewicz, R., & Holt, R. D. (1995). When does Evolution by Natural Selection Prevent Extinction? *Evolution*, *49*(1), 201–207.
- González, A. V., & Pérez, F. (2010). Pollen Limitation and Reproductive Assurance in the Flora of the Coastal Atacama Desert. *International Journal of Plant Sciences*, *171*(6), 607–6014. <https://doi.org/10.1086/653135>
- Goodwillie, C., Kalisz, S., & Eckert, C. (2005). The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *36*(1), 47–79.
- Goodwillie, C., & Weber, J. (2018). The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany*, *105*(4), 641–655. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1045>
- Gouda, E., & Butcher, D. (2021). *A List of Accepted Bromeliaceae Names*. University Botanic Gardens, Utrecht.
- Grant, J. (1995). Bromelienstudien. The resurrection of *Alcantarea* and *Werauhia*, a new genus. *Tropische Und Subtropische Pflazenwelt*, *91*, 8–57.
- Grant, V. (1949). Pollination Systems as Isolating Mechanisms in Angiosperms. *Evolution*, *3*(1), 82–97.
- Grant, V. (1981). *Plant speciation*. Columbia University Press.
- Grant, V. (1993). Effects of Hybridization and Selection on Floral Isolation. *National Academy of Sciences*, *90*(3), 990–993.
- Grant, V. (1994a). Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *91*(1), 3–10.
- Grant, V. (1994b). Mechanical and Ethological Isolation Between *Pedicularis groenlandica* and *P. attollens* (Scrophulariaceae). *Biologisches Zentralblatt*, *113*, 43–51.
- Harrison, R. (2014). Species and Speciation. In J. B. Losos (Ed.), *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 489–495). Princeton University Press.

- Herlihy, C. R., & Eckert, C. G. (2002). Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. *Nature*, *416*(6878), 320–323. <https://doi.org/10.1038/416320a>
- Hmeljevski, K. V., Wolowski, M., Forzza, R. C., & Freitas, L. (2017). High outcrossing rates and short-distance pollination in a species restricted to granitic inselbergs. *Australian Journal of Botany*, *65*(4), 315–326.
- Holdridge, L. R. (1966). The life zone system. *Adansonia*, *6*(2), 199–203.
- Hopkins, R. (2013). Reinforcement in plants. *New Phytologist*, *197*(4), 1095–1103. <https://doi.org/10.1111/nph.12119>
- Hörandl, E., & Hojsgaard, D. (2012). The evolution of apomixis in angiosperms: A reappraisal. *Plant Biosystems*, *146*(3), 681–693. <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.716795>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, *50*(3), 346–363.
- INGCR. (1981). *Hoja cartográfica Istarú 3445. Proyección Lambert*. Instituto Geográfico Nacional. Ministerio de Obras Públicas y Transporte.
- Jabaily, R. S., & Sytsma, K. J. (2013). Historical biogeography and life-history evolution of Andean Puya (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *171*, 201–224.
- Jackson, D., & White, I. R. (2018). When should meta-analysis avoid making hidden normality assumptions? *Biometrical Journal*, *60*(6), 1040–1058.
- Jain, S. K. (1976). The Evolution of Inbreeding in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *7*(1), 469–495.
- Jeppson, H., Hofmann, H., & Cook, D. (2021). *ggmosaic: Mosaic Plots in the “ggplot2” Framework. R package version 0.3.3*.
- Jones, N. T., Husband, B. C., & MacDougall, A. S. (2013). Reproductive system of a mixed-mating plant responds to climate perturbation by increased selfing. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1766), 1–6. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1336>
- Jürgens, A., Witt, T., & Gottsberger, G. (2012). Pollen grain size variation in Caryophylloideae: A mixed strategy for pollen deposition along styles with long stigmatic areas? *Plant Systematics and Evolution*, *298*(1), 9–24.
- Kaehler, M., Varassin, I., & Goldenberg, R. (2005). Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, *28*(2), 219–228.
- Kalisz, S., Vogler, D. W., & Hanley, K. M. (2004). Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature*, *430*(1), 884–446.



- Kay, K. (2006). Reproductive Isolation between Two Closely Related Hummingbird-Pollinated Neotropical Gingers. *Evolution*, 60(3), 538–552.
- Kearns, C., & Inouye, D. (1993). Techniques for pollination biologists. In *Trends in Ecology & Evolution* (Vol. 9, Issue 4). University Press of Colorado. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90195-3](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90195-3)
- Kessler, M., & Krömer, T. (2000). Patterns and Ecological Correlates of Pollination Modes Among Bromeliad Communities of Andean Forests in Bolivia. *Plant Biology*, 2(6), 659–669.
- Kessler, Michael, Abrahamczyk, S., & Krömer, T. (2020). The role of hummingbirds in the evolution and diversification of Bromeliaceae: unsupported claims and untested hypotheses. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192(4), 592–608.
- King, J. (1960). The peroxidase reaction as an indicator of pollen viability. *Stain Technology*, 36(225227), 109.
- Knight, T., Steets, J., Vamosi, J., Mazer, S., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, J., Mitchell, M., & Ashman, T. (2005). Pollen limitation of plant reproduction: patterns and process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 36(1), 467–497.
- Krömer, T., Kessler, M., & Herzog, S. (2006). Distribution and Flowering Ecology of Bromeliads along Two Climatically Contrasting Elevational Transects in the Bolivian Andes 1. *Biotropica*, 38(2), 183–195.
- Krömer, T., Kessler, M., Lohaus, G., & Schmidt-Lebuhn, A. N. (2008). Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biology*, 10(4), 502–511.
- Lande, R., & Schemske, D. W. (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. *Evolution*, 39(1), 24–40. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb04077.x>
- Lasso, E., & Ackerman, J. (2004). The flexible breeding system of *Werauhia sintenisii*, a cloud forest bromeliad from Puerto Rico. *Biotropica*, 36(3), 414–417.
- LaVal, R., & Fitch, H. (1977). Structure, movements and reproduction in three Costa Rican bat communities. *Museum of Natural History of The University of Kansas*, 69(1), 1–28.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Leal, R., Moreira, M., Pinto, A., Ferreira, J., Rodriguez-Girones, M., & Freitas, L. (2020). Temporal changes in the most effective pollinator of a bromeliad pollinated by bees and hummingbirds. *PeerJ*, 8, 1–22.
- Leclerc-Potvin, C., & Ritland, K. (1994). Modes of Self-Fertilization in *Mimulus guttatus*

- (Scrophulariaceae): A Field Experiment. *American Journal of Botany*, 81(2), 199–205.
- Lenzi, M., Matos, J. Z. de, & Orth, A. I. (2006). Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 20(2), 487–500.
- Levin, D. (1971). The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon*, 20(1), 91–113.
- Levin, D. (1972). Competition for pollinator service: a stimulus for the evolution of autogamy. *Evolution*, 26(4), 668–669.
- Levin, D. (2006). Flowering Phenology in Relation to Adaptive Radiation. *Systematic Botany*, 31(2), 239–246.
- Levin, D., & Anderson, W. (1970). Competition for Pollinators between Simultaneously Flowering Species. *Source: The American Naturalist*, 104(939), 455–467.
- Lewis, D., & Crowe, L. (1958). Unilateral interespecific incompatibility in flowering plants. *Heredity*, 12, 233–256.
- Liang, H., Ren, Z.-X., Tao, Z.-B., Zhao, Y.-H., Bernhardt, P., Li, D.-Z., & Wang, H. (2018). Impact of pre- and post-pollination barriers on pollen transfer and reproductive isolation among three sympatric *Pedicularis* (Orobanchaceae) species. *Plant Biology*, 20(4), 662–673. <https://doi.org/10.1111/plb.12833>
- Liberati, A., Altman, D., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P., Ioannidis, J., Clarke, M., Devereaux, P., Kleijnen, J., & Moher, D. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Medicine*, 6(7), e1000100.
- Liu, H., & Koptur, S. (2003). Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban-wildland interface. *American Journal of Botany*, 90(8), 1180–1187. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.8.1180>
- Lloyd, D. (1965). Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, 1(195), 3–134.
- Lloyd, D. (1979). Some Reproductive Factors Affecting the Selection of Self-Fertilization in Plants. *The American Naturalist*, 113(1), 67–79.
- Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . II . The Selection of Self- Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 370–380.
- Lloyd, D., & Schoen, D. (1992). Self- and cross-fertilization in plants . I . Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 358–369.

- Lloyd, D., & Webb, C. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24(1), 135–162.
- Lowry, D. B., Modliszewski, J. L., Wright, K. M., Wu, C. A., & Willis, J. H. (2008). Review. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1506), 3009–3021. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0064>
- Lumer, C. (1980). Rodent pollination of *Blakea* (Melastomataceae) in a Costa Rican cloud forest. *Brittonia*, 32(4), 512–517.
- Lussu, M., De Agostini, A., Marignani, M., Cogoni, A., & Cortis, P. (2018). *Ophrys annae* and *Ophrys chestermanii*: an impossible love between two orchid sister species. *Nordic Journal of Botany*, 36(10), 1–8. <https://doi.org/10.1111/njb.01798>
- Lynch, M. (1991). The Genetic Interpretation of Inbreeding Depression and Outbreeding Depression. *Evolution*, 45(3), 622–629.
- Machado, C. G., & Semir, J. (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.
- Mallick, S. A. (2001). Faultative dichogamy and reproductive assurance in partially protandrous plants. *Oikos*, 95(3), 533–536.
- Marín Gómez, O. (2014). *Ecología de la polinización y mecanismos de coexistencia del ensamble de columnnea (Gesneriaceae) en la reserva natural Ñambí, Nariño-Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Marques, A. R., & Lemos, J. P. (2008). Fenologia reprodutiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 22(2), 417–424.
- Marquis, R. J. (1988). Phenological Variation in the Neotropical Understory Shrub *Piper Arielanum*: Causes and Consequences. *Ecology*, 69(5), 1552–1565.
- Martén-Rodríguez, S., & Fenster, C. B. (2010). Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesneriaceae: a specialists vs generalist comparison. *Ecology*, 91(1), 155–165.
- Martin, N., & Willis, J. (2007). Ecological Divergence Associated with Mating System Causes Nearly Complete Reproductive Isolation between Sympatric *Mimulus* Species on JSTOR. *Evolution*, 61(1), 68–82.
- Matallana, G., Eugênio Oliveira, P., da Silva, P., & Wendt, T. (2016). Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*,

- 181(3), 521–531.
- Matallana, G., Godinho, M., Guilherme, F., Belisario, M., Coser, T., & Wendt, T. (2010). Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Systematics and Evolution*, 289(1–2), 57–65.
- McCain, C. M. (2007). Could temperature and water availability drive elevational species richness patterns? A global case study for bats. *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00263.x>
- Mcneilly, T., & Antonovicsf, J. (1968). Evolution in closely adjacent plant populations iv. Barriers to gene flow. *Heredity*, 23, 205–218. <https://doi.org/10.1038/hdy.1968.29>
- McWilliams, E. (1974). Chromosome number and evolution. In L. Smith & R. J. Downs (Eds.), *Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica*. (pp. 35–39).
- Miller, J. S., & Kostyun, J. L. (2011). Functional gametophytic self-incompatibility in a peripheral population of *Solanum peruvianum* (Solanaceae). *Heredity*, 107(1), 30–39. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.151>
- Misiewicz, T., Simmons, T., & Fine, P. (2020). The contribution of multiple barriers to reproduction between edaphically divergent lineages in the Amazonian tree *Protium subserratum* (Burseraceae). *Ecology and Evolution*, 10(13), 6646–6663. <https://doi.org/10.1002/ece3.6396>
- Moeller, D. (2006). Geographic Structure of Pollinator Communities , Reproductive Assurance , and the Evolution of Self-Pollination. *Ecology*, 87(6), 1510–1522.
- Moeller, D., & Geber, M. (2005). Ecological context of the evolution of self-pollination in *Clarkia xantiana*: Population size, plant communities and reproductive assurance. *Evolution*, 59(4), 786–799. <https://doi.org/10.1554/04-656>
- Mondragón, D., Valverde, T., & Hernández-Apolinar, M. (2015). Population ecology of epiphytic angiosperms: A review. *Tropical Ecology*, 56(1), 1–39.
- Morales, J. F. (2003). Bromeliaceae. In B. Hammel, M. Grayum, C. Herrera, & N. Zamora (Eds.), *Manual de Plantas de Costa Rica Volumen II. Gimnospermas y Monocotiledóneas (Agavaceae-Musaceae)* (Vol. 92, pp. 297–375). Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden. 92: 297-375.
- Moreira-Hernández, J., & Muchhala, N. (2019). Importance of Pollinator-Mediated Interspecific Pollen Transfer for Angiosperm Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50(1), 191–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024804>
- Moreno-Valdez, A., Grant, W., & Honeycutt, R. (2000). A simulation model of Mexican long-nosed bat (*Leptonycteris nivalis*) migration. *Ecological Modelling*, 134(1), 117–127.

- Mosquin, T. (1971). Competition for pollinators as a stimulus for the evolution of flowering time. *Wiley on Behalf Nordic Society Oikos*, 22(3), 398–402.
- Moyle, L. C., Olson, M. S., & Tiffin, P. (2004). Patterns of Reproductive Isolation in Three Angiosperm Genera. *Evolution*, 58(6), 1195–1208.
- Muchhala, N. (2008). Functional Significance of Interspecific Variation in *Burmeistera* Flower Morphology: Evidence from Nectar Bat Captures in Ecuador. *Biotropica*, 40(3), 332–337.
- Muchhala, N., & Potts, M. (2007). Character Displacement among Bat-Pollinated Flowers of the Genus *Burmeistera*: Analysis of Mechanism, Process and Pattern. *Proceedings of The Royal Society Biological Sciences*, 274(1626), 2731–2737. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0670>
- Munguía-Rosas, M. A., & Jácome-Flores, M. E. (2020). Reproductive isolation between wild and domesticated chaya ( *Cnidoscolus aconitifolius* ) in sympatry. *Plant Biology*, 22(5), 932–938. <https://doi.org/10.1111/plb.13140>
- Neal, P., & Anderson, G. (2005). Are “mating systems” “breeding systems” of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? or is it the other way around? *Plant Systematic Evolution*, 250(1), 173–185.
- Neri, J., Wendt, T., & Palma-Silva, C. (2017). Natural hybridization and genetic and morphological variation between two epiphytic bromeliads. *AoB PLANTS*, 10(1), 1–16.
- Newcombe, R. G. (1998). Two-sided confidence intervals for the single proportion: Comparison of seven methods. *Statistics in Medicine*, 17(8), 857–872. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19980430\)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19980430)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E)
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Ornduff, R. (1969). Reproductive Biology in Relation to Systematics. *Taxon*, 18(2), 121–133.
- Orozco-Ibarrola, O. A., Flores-Hernández, P. S., Victoriano-Romero, E., Corona-López, A. M., & Flores-Palacios, A. (2015). Are breeding system and florivory associated with the abundance of *Tillandsia* species (Bromeliaceae)? *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(1), 50–65.
- Ortiz, M., Talavera, S., García-Castaño, J., Tremersberger, K., Stuessy, T., Ballao, F., & Casimiro-Soriguer, R. (2006). Self-Incompatibility and Floral Parameters in *Hypochaeris* sect. *Hypochaeris* (Asteraceae) on JSTOR. *American Journal of Botany*, 93(2), 234–244.
- Ostenfeld, C. H. (1929). Genetic studies in *Polemonium* II. Experiments with crosses of *P. mexicanum* Cerv. and *P. pauciflorum* Wats. *Hereditas*, 12(1), 33–40.
- Parton, E., Vervaeke, I., Deroose, R., & De Proft, M. . (2001). Interspecific anf intergeneric fertilization barriers in Bromeliaceae. *Acta Horticulturae*, 552, 43–53.

- Pool-Chalé, M., Ramírez-Morillo, I., Carnevali Fernández-Concha, G., & Hornung-Leoni, C. T. (2018). Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). *Plant Biology*, 20(1), 113–120.
- Primack, R. B. (1985). Patterns of Flowering Phenology in Communities, Populations, Individuals, and Single Flowers. In J. White (Ed.), *The Population Structure of Vegetation. Handbook of Vegetation Science: Vol. Vol.3* (pp. 571–593). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4\\_24](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5500-4_24)
- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, 125, 21–30.
- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/>
- Raduski, A. R., Haney, E. B., & Igi, B. (2012). The expression of self-incompatibility in angiosperms is bimodal. *Evolution*, 66(4), 1275–1283.
- Ramírez-Aguirre, E., Martén-Rodríguez, S., Quesada-Avila, G., Quesada, M., Martínez-Díaz, Y., Oyama, K., & Espinosa-García, F. J. (2019). Reproductive isolation among three sympatric *Achimenes* species: pre- and post-pollination components. *American Journal of Botany*, 106(7), 1021–1031. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1324>
- Ramírez, N., & Brito, Y. (1990). Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan llanos. *American Journal of Botany*, 77(10), 1260–1271.
- Ramírez, N., & Hokche, O. (2019). Outbreeding and inbreeding strategies in herbaceous-shrubby communities in the Venezuelan Gran Sabana Plateau. *AoB PLANTS*, 11(4), 1–15.
- Ramírez, N., & Nassar, J. (2017). Breeding systems in Angiosperms : novel inferences from a new analytical approach. *Plant Systematics and Evolution*, 303(1), 119–137.
- Ramsey, J., Bradshaw, H., & Schemske, D. (2003). Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution*, 57(7), 1520–1534. <https://www-jstor-org.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/stable/pdf/3448754.pdf>
- Rathcke, B., & Lacey, E. (1985). Phenological Patterns of Terrestrial Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 179–214.
- Raven, P. H. (1962). The systematics of *Oenothera*: subgenus *Chylismia*. *University California Public Botanic*, 34, 1–122.
- Restrepo-Chica, M., & Bonilla-Gómez, M. A. (2017). Dinámica de la fenología y visitantes florales de dos bromelias terrestres de un páramo de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*,

88(3), 636–645.

- Richards, A. J., Smith, R. A. S., & Bayliss, M. W. (2003). Apomixis in flowering plants: An overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 358(1434), 1085–1093.
- Ríos, L. D., & Cascante-Marín, A. (2017). High selfing capability and low pollinator visitation in the hummingbird-pollinated epiphyte *Pitcairnia heterophylla* ( Bromeliaceae ) at a Costa Rican mountain forest. *Revista Biología Tropical*, 65(June), 735–743.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., & Quesada, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*, 17(3), 388–400.
- Ruan, C., Qin, P., & Teixeira Da Silva, J. (2010). Relationship between reproductive assurance and mixed mating in perennial *Kosteletzkya virginica*. *South African Journal of Botany*, 77(1), 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.08.012>
- Sánchez, J., Duran, F., & Vega, G. (2008). *Diversidad de plantas , mamíferos y mariposas en los Cerros de La Carpintera , Costa Rica* (p. 98). Departamento de Historia Natural. Museo Nacional de Costa Rica. Ministerio de Cultura y Juventud.
- Santana, C. S., & Machado, C. G. (2010). Fenologia de floração e polinização de espécies ornitófilas de bromeliáceas em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, BA, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 33(3), 469–477.
- Schiestl, F. P., & Schluter, P. M. (2009). Floral isolation, specialized pollination, and pollinator behavior in orchids. *Annual Review of Entomology*, 54, 425–446. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090603>
- Schleuning, M., Templin, M., Huamán, V., Vadillo, G. P., Becker, T., Durka, W., Fischer, M., & Matthies, D. (2011). Effects of Inbreeding, Outbreeding, and Supplemental Pollen on the Reproduction of a Hummingbird-pollinated Clonal Amazonian Herb. *Biotropica*, 43(2), 183–191.
- Schluter, D. (2014). Speciation and Macroevolution. In Jonathan Losos (Ed.), *Evolution* (pp. 483–599). Princeton University Press.
- Schmid, S., Schmid, V. S., Zillikens, A., Harter-Marques, B., & Steiner, J. (2010). Bimodal pollination system of the bromeliad *Aechmea nudicaulis* involving hummingbirds and bees. *Plant Biology*, 13(1), 41–50.
- Schoen, D., & Lloyd, D. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants . III . Methods for Studying Modes and Functional Aspects of Self-Fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 381–393.

- Schulte, K., Silvestro, D., Kiehlmann, E., Vesely, S., Novoa, P., & Zizka, G. (2010). Detection of recent hybridization between sympatric Chilean Puya species (Bromeliaceae) using AFLP markers and reconstruction of complex relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(3), 1105–1119.
- Scopece, G., Musacchio, A., Widmer, A., & Cozzolino, S. (2007). Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. *Evolution*, 61(11), 2623–2642. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00231.x>
- Scrok, G. J., & Varassin, I. G. (2011). Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 25(3), 571–576.
- Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual. In *Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2003-9>
- Siquiera Filho, J. A. (2003). *Fenologia Da Floracao, Ecologia Da Polinizacao E Conservacao de Bromeliaceae Na Floresta Atlantica Nordestina*. Universidade Federal de Pernambuco.
- Smith, L., & Downs, R. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(1), 1–658.
- Smith, L., & Downs, R. (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(2), 663–1492.
- Smith, L., & Downs, R. (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14(3), 1493–2142.
- Smith, L., & Till, W. (1998). Bromeliaceae. In K. Kubitzki (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants. IV. Flowering Plants. Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)* (pp. 74–99). Springer-Verlag.
- Snedecor, G., & Cochran, W. (1989). *Statistical Methods* (8th ed.). Iowa State Press.
- Sobel, J. M., & Chen, G. F. (2014). Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution*, 68(5), 1511–1522. <https://doi.org/10.1111/evo>
- Souza, E., Versieux, L. M., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Costa, M. A. P. de C., & Martinelli, A. P. (2017). Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. *Scientia Horticulturae*, 223(February), 53–61.
- Sprinthall, R. (2014). *Basic Statistical Analysis*. (9th Editio). Pearson.
- Stebbins, G. L. (1957). Self Fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, 91(861), 337–354.
- Stebbins, G. L. (1974). *Flowering plants: evolution above the species level*. Harvard University Press.
- Stebbins, G. L. (1977). *Flowering plants: evolution above in species level*. Harvard University Press.
- Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T. (1999). Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia*, 121(3), 432–440. <https://doi.org/10.1007/s004420050949>



- Stevens, P. (2017). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 14, July 2017 [and More or Less Continuously Updated Since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stewart, A. B., & Dudash, M. R. (2016). Differential pollen placement on an Old World nectar bat increases pollination efficiency. *Annals of Botany*, *117*(1), 145–152. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv163>
- Straube, F., & Bianconi, G. (2002). Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiroptera Neotropical*, *8*(1), 150–152.
- Stroo, A. (2000). Pollen morphological evolution in bat pollinated plants. *Plant Systematics and Evolution*, *222*, 225–242.
- Subhash, R., Keim, J., & Solymos, P. (2019). *ResourceSelection: Resource Selection (Probability) Functions for Use-Availability Data. R package version 0.3-5*.
- Tallmon, D. A., Luikart, G., & Waples, R. S. (2004). The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. *Trends in Ecology & Evolution*, *19*(9), 489–496.
- Teixido, A. L., & Aizen, M. A. (2019). Reproductive assurance weakens pollinator-mediated selection on flower size in an annual mixed-mating species. *Annals of Botany*, *123*, 1067–1077. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz014>
- Theiss, K., Holsinger, K., & Evans, M. (2010). Breeding system variation in 10 evening primroses ( *Oenothera* sections *Anogra* and *Kleinia*; *Onagraceae*). *American Journal of Botany*, *97*(6), 1031–1039.
- Timm, R., & LaVal, R. (2000). Mammals. In N. Nadkarni & N. Wheelwright (Eds.), *Monteverde: Ecology and Conservation of a Tropical Cloud Forest* (pp. 223–243). Oxford University Press.
- Torres, C. (2000). Pollen size evolution: Correlation between pollen volume and pistil length in *Asteraceae*. *Sexual Plant Reproduction*, *12*(6), 365–370. <https://doi.org/10.1007/s004970000030>
- Tschapka, M., & Dressler, S. (2002). Chiropterophily: On bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine*, *19*(2), 114–125. <https://doi.org/10.1111/1467-8748.00340>
- Tschapka, M., Dressler, S., & von Helversen, O. (2006). Bat visits to *Marcgravia pittieri* and notes on the inflorescence diversity within the genus *Marcgravia* (*Marcgraviaceae*). *Flora*, 383–388.
- Tschapka, M., & Von Helversen, O. (2007). Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Costa Rican lowland rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, *23*(4), 385–395.
- Urtley, J. (1983). A revision of the middle american *Tehecophylloideae* (*Bromeliaceae*). *Tulane Studies in Zoology and Botany*, *24*(1), 1–81.

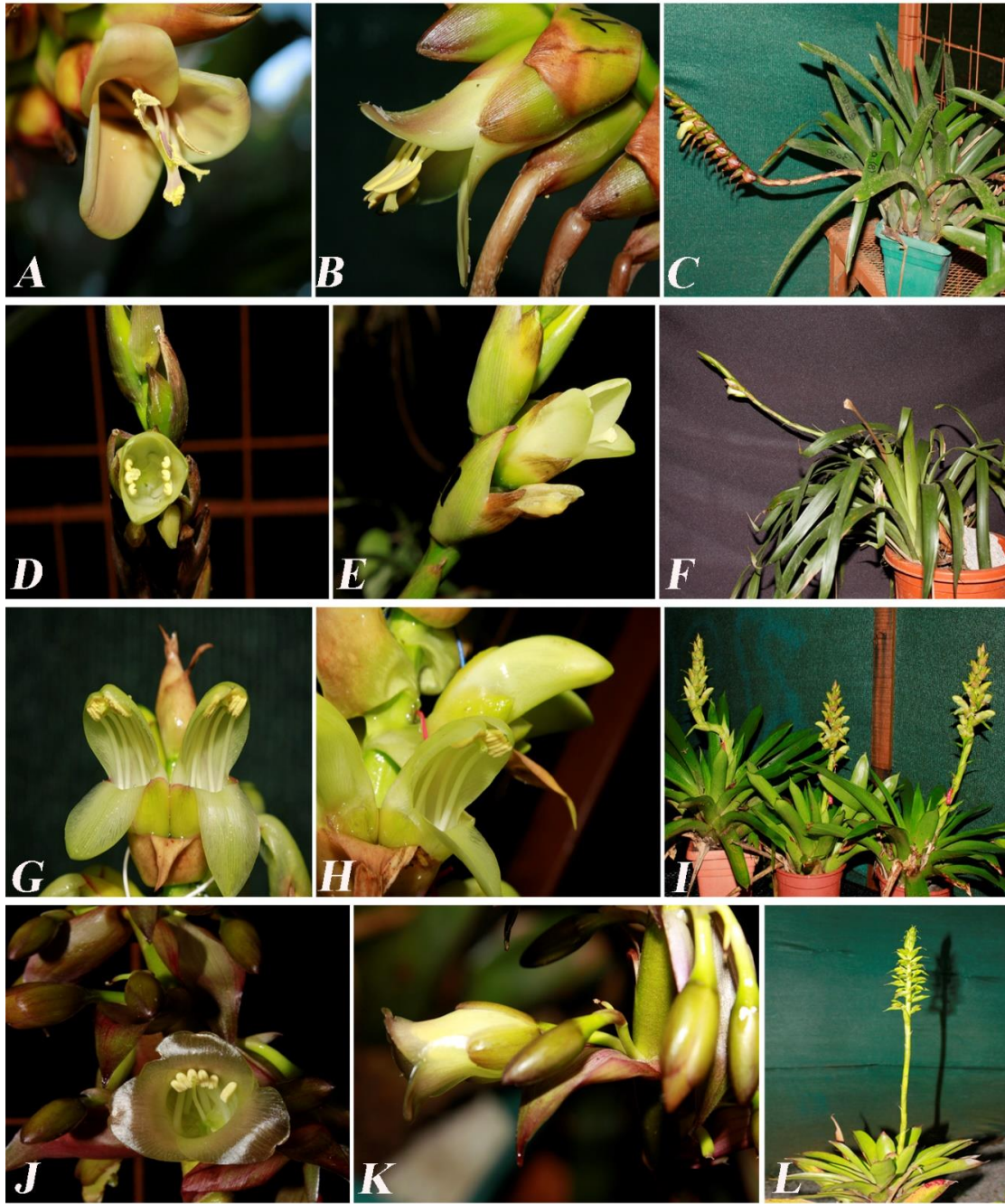
- Vaz Mondo, V. H., Cicero, S. M., Dourado-Neto, D., Pupim, T. L., & Dias, M. A. N. (2013). Vigor de sementes e crescimento inicial da cultura do milho. *Journal of Seed Science*, 35(1), 64–69. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000100009>
- Vervaeke, I., Parton, E., Maene, L., Deroose, R., & De Proft, M. P. (2001). Prefertilization barriers between different bromeliaceae. *Euphytica*, 118(1), 91–97.
- Wang, X.-P., Yu, W.-B., Sun, S.-G., & Huang, S.-Q. (2016). Pollen size strongly correlates with stigma depth among *Pedicularis* species. *Journal of Integrative Plant Biology*, 58(10), 818–821. <https://doi.org/10.1111/jipb.12477>
- Webb, C., & Lloyd, D. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II . Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24, 163–178.
- Weber, M. G., & Strauss, S. Y. (2016). Coexistence in Close Relatives: Beyond Competition and Reproductive Isolation in Sister Taxa. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47, 359–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054048>
- Wendt, T., Canela, M. B. F., Klein, D. E., & Rios, R. I. (2002). Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of Pitcairnia (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 232(3–4), 201–212.
- Wendt, T., Coser, T. S., Matallana, G., & Guilherme, F. A. G. (2008). An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 275(1–2), 31–41.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2 - Elegant Graphics for Data Analysis* / Hadley Wickham / Springer (Second). Springer-Verlag Nueva York.
- Widmer, A., Lexer, C., & Cozzolino, S. (2009). Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity*, 102(1), 31–38. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.69>
- Wilcock, C., & Neiland, R. (2002). Review Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7(6), 270–277.
- Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80–83.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press.
- Wilson, D., Cole, R., Nichols, J., Rudran, R., & Foster, M. (1996). *Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for mammals*. Smithsonian Institution Press.
- Wolowski, M., Saad, C., Ashman, T., & Freitas, L. (2013). Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the Neotropics. In *Naturwissenschaften*. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0995-0>

- Wright, S. I., Slotte, T., & Kalisz, S. (2013). Evolutionary consequences of self-fertilization in plants. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1760), 1–10.
- Xu, X., Meng, Q. L., Geng, M. F., Ren, N. N., Zhou, L., Du, Y. S., Cai, Z., Wang, M. X., Wang, X., Wang, X. H., Han, J. D., Jiang, S., Jing, C. Y., Liu, R., Zheng, X. M., Yang, Q. W., Zhang, F. M., & Ge, S. (2020). Divergence in flowering time is a major component contributing to reproductive isolation between two wild rice species (*Oryza rufipogon* and *O. nivara*). *Science China Life Sciences*, 63(11), 1714–1724. <https://doi.org/10.1007/s11427-019-1678-6>
- Yang, C. F., Gituru, R. W., & Guo, Y. H. (2007). Reproductive isolation of two sympatric louseworts, *Pedicularis rhinanthoides* and *Pedicularis longiflora* (Orobanchaceae): How does the same pollinator type avoid interspecific pollen transfer? *Biological Journal of the Linnean Society*, 90(1), 37–48. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00709.x>
- York, H. A., Rodríguez-Herrera, B., Laval, R. K., Timm, R. M., & Lindsay, K. E. (2019). Field key to the bats of Costa Rica and Nicaragua. *Journal of Mammalogy*, 100(6), 1726–1749. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyz150>
- Zangerl, A., Berenbaum, M., & Nitao, J. (1991). Parthenocarpic fruits in wild parsnip : decoy defence against a specialist herbivore. *Evolutionary Ecology*, 5, 136–145.
- Zar, J. (2010). *Biostatistical analysis (5th ed.)*. Prentice-Hall/Pearson.
- Zhi-Qiang, Z., & Quing-Jun, L. (2008). Autonomous selfing provides reproductive assurance in an alpine ginger *Roscoea schneideriana* (Zingiberaceae). *Annals of Botany*, 102(4), 531–538. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn136>
- Zizka, A., Azevedo, J., Leme, E., Neves, B., Costa, A. F., Caceres, D., & Zizka, G. (2019). Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). *Diversity and Distributions*, 26(2), 183–195. <https://doi.org/10.1111/ddi.13004>
- Zotz, G. (2013). The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(3), 453–481. <https://doi.org/10.1111/boj.12010>

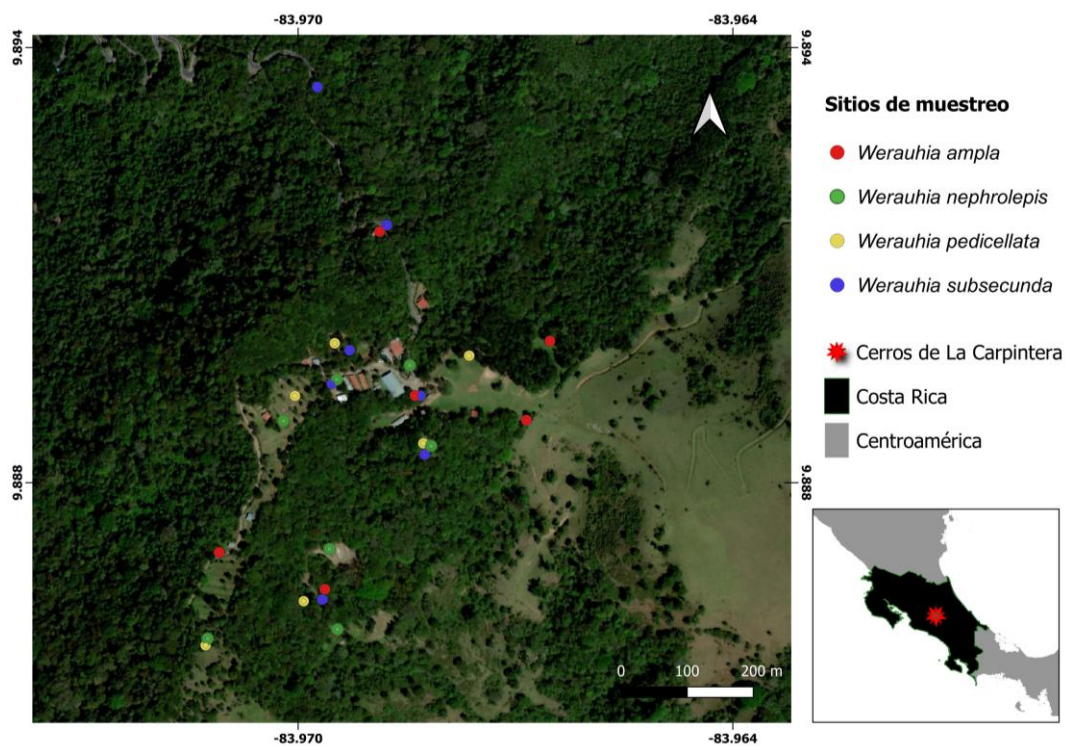
**Cuadro 1.** Valores de los Índices de Aislamiento Reproductivo (RI) y Contribución al Aislamiento (AC) absoluto de las diferentes barreras reproductivas al aislamiento reproductivo total, entre cuatro especies de *Werauhia* (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda*) en un bosque montano en los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.

Receptora × Donadora Barrera reproductiva	<i>W. a</i> × <i>W. n</i>		<i>W. a</i> × <i>W. p</i>		<i>W. a</i> × <i>W. s</i>		<i>W. n</i> × <i>W. a</i>		<i>W. n</i> × <i>W. p</i>		<i>W. n</i> × <i>W. s</i>	
	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC
<b>Pre-polinización</b>												
Fenología floral (RI <sub>F</sub> ) (2018 – 2019, 2021)	*0.97 (1.00, 0.96)	*0.97 (1.00, 0.96)	*0.65 (0.50, 0.66)	*0.65 (0.50, 0.66)	*0.18 (0.20, 0.21)	*0.18 (0.20, 0.21)	*0.97 (1.00, 0.93)	*0.97 (1.00, 0.93)	*0.99 (1.00, 0.98)	*0.99 (1.00, 0.98)	*0.97 (1.00, 0.95)	*0.97 (1.00, 0.95)
Mecánico floral (RI <sub>M</sub> )	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.82	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.03
<b>SubTotal</b>	-	<b>0.97</b>	-	<b>0.65</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>0.97</b>	-	<b>0.99</b>	-	<b>1.00</b>
<b>Post-polinización</b>												
<b>Pre-cigóticas</b>												
Incompatibilidad (RI <sub>I</sub> )	-	-	1.00	0.35	1.00	0.00	-	-	-	-	-	-
<b>Post-cigóticas</b>												
Producción de semillas (RI <sub>S</sub> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viabilidad de semillas (RI <sub>V</sub> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>SubTotal</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.35</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>
<b>Aislamiento total</b>		<b>0.97</b>		<b>1.00</b>		<b>1.00</b>		<b>0.97</b>		<b>0.99</b>		<b>1.00</b>
Receptora × Donadora Barrera reproductiva	<i>W. p</i> × <i>W. a</i>		<i>W. p</i> × <i>W. n</i>		<i>W. p</i> × <i>W. s</i>		<i>W. s</i> × <i>W. a</i>		<i>W. s</i> × <i>W. n</i>		<i>W. s</i> × <i>W. p</i>	
	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC	RI	AC
<b>Pre-polinización</b>												
Fenología floral (RI <sub>F</sub> ) (2018 – 2019, 2021)	*0.62 (0.69, 0.50)	*0.62 (0.69, 0.50)	*0.99 (1.00, 0.97)	*0.99 (1.00, 0.97)	*0.60 (0.76, 0.50)	*0.60 (0.76, 0.50)	*0.27 (0.20, 0.26)	*0.27 (0.20, 0.26)	*0.98 (1.00, 0.98)	*0.98 (1.00, 0.98)	*0.74 (0.76, 0.71)	*0.74 (0.76, 0.71)
Mecánico floral (RI <sub>M</sub> )	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.40	1.00	0.73	1.00	0.02	1.00	0.26
<b>Subtotal</b>	-	<b>0.62</b>	-	<b>0.99</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>
<b>Post-polinización</b>												
<b>Pre-cigóticas</b>												
Incompatibilidad (RI <sub>I</sub> )	1	0.38	-	-	-	-	0.17	0.00	-	-	-	-
Producción de semillas (RI <sub>S</sub> )	-	-	-	-	-	-	0.57	0.00	-	-	-	-
<b>Post-cigóticas</b>												
Viabilidad de semillas (RI <sub>V</sub> )	-	-	-	-	-	-	0.15	0.00	-	-	-	-
<b>Subtotal</b>	-	<b>0.38</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>	-	<b>0.00</b>
<b>Aislamiento total</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>0.99</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>	-	<b>1.00</b>

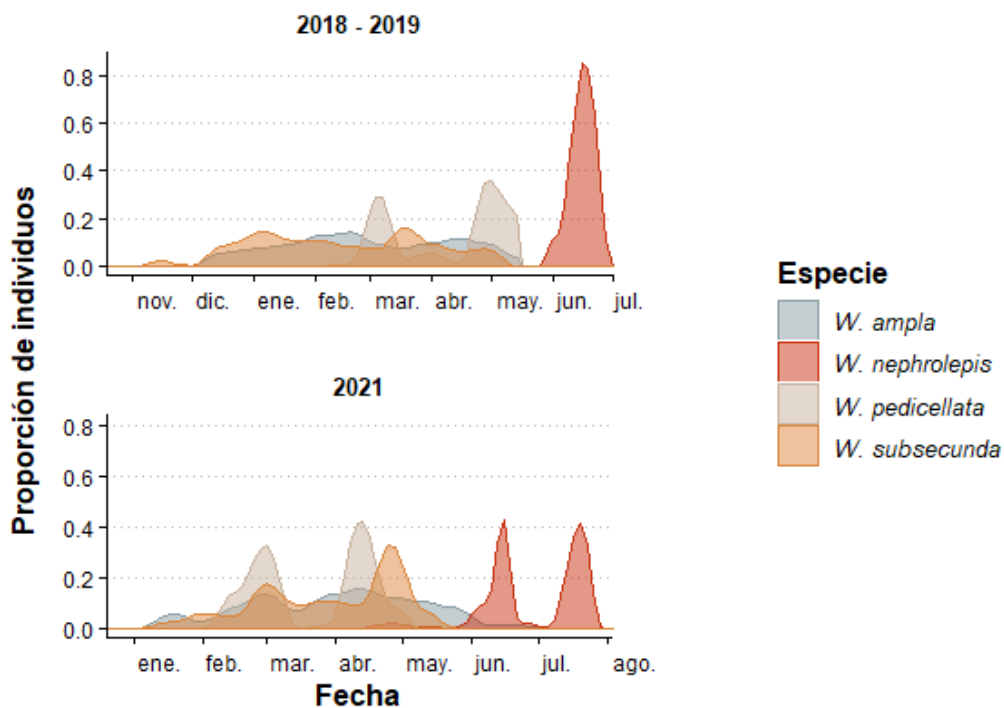
\*Valor calculado con los datos de los dos periodos de observación. Entre paréntesis se muestran los valores individuales de RI<sub>F</sub> y AC absoluto para cada periodo de observación separados por una coma (2018 – 2019, 2021).



**Figura 1.** A - C) Flores en vista frontal y lateral e inflorescencia de *Werauhia ampla*, D - F) Flores en vista frontal y lateral e inflorescencia de *W. subsecunda*, G - I) Flores en vista frontal y lateral e inflorescencia de *W. nephrolepis*, J - L) Flores en vista frontal y lateral e inflorescencia de *W. pedicellata*. fotografías: A. Cascante-Marín.

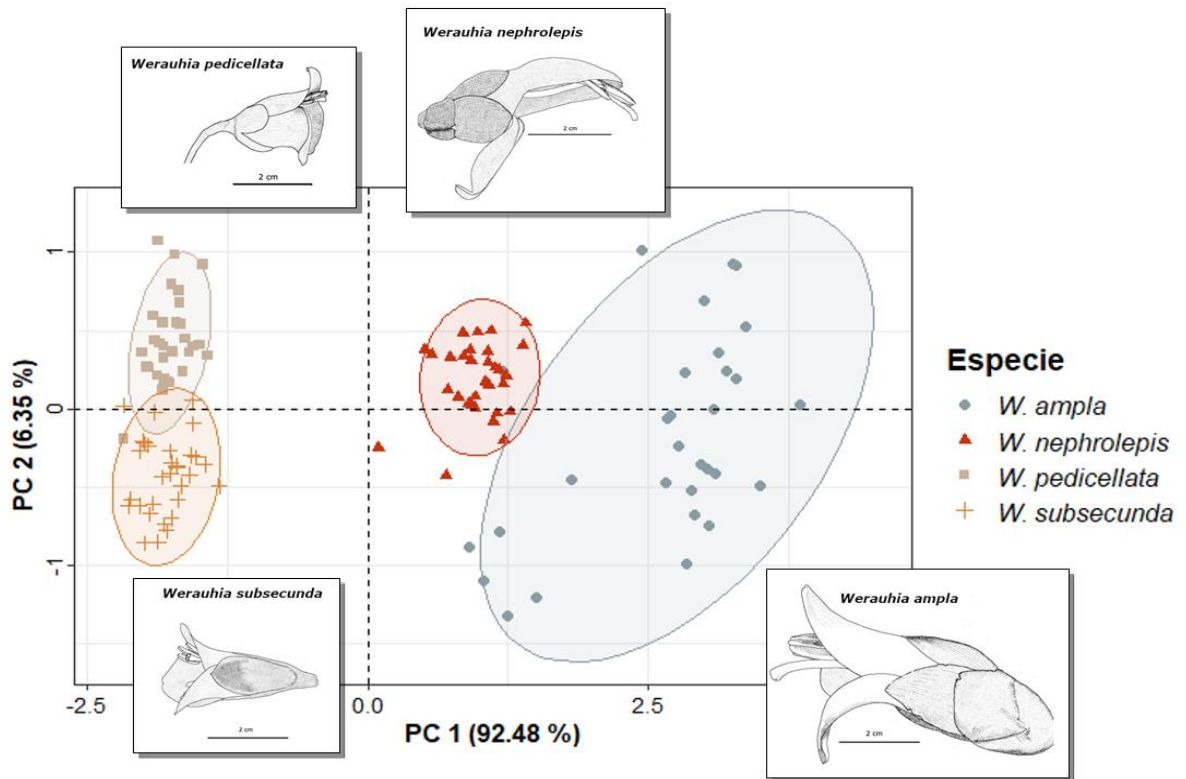


**Figura 2.** Sitio de muestreo de las poblaciones de bromelias estudiadas del género *Werauhia* en los Cerros de La Carpintera, Cartago, Costa Rica. Adaptado de imagen satelital tomada de Bing (2021).

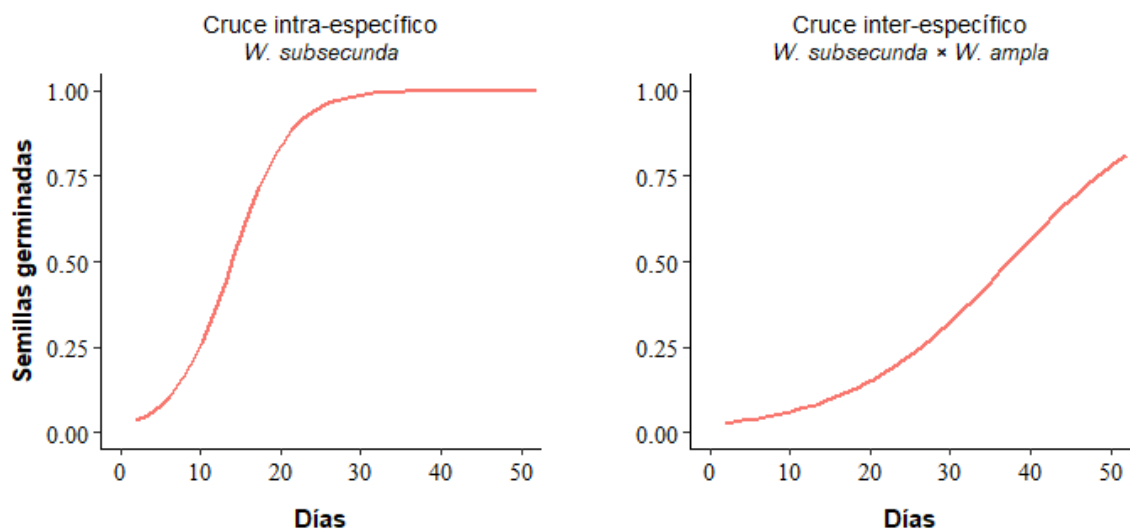


**Figura 3.** Patrón de fenología floral de las bromelias epífitas del género *Werauhia* en un bosque montano de los Cerros de la Carpintera, Costa Rica.

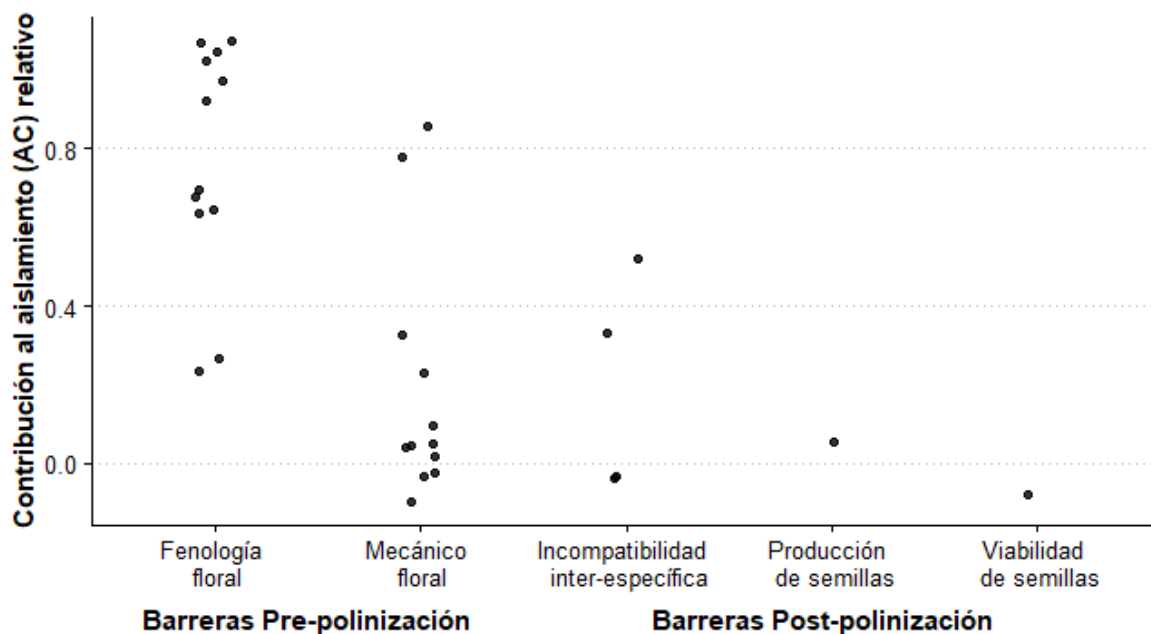




**Figura 4.** Gráfico de dispersión que presenta el plano principal del análisis de componentes principales (PCA) con las observaciones agrupadas por especie (nivel de confianza de elipses al 0.95), a partir del estudio de cuatro variables (longitud de corola, diámetro de la boca de la corola, longitud promedio de estambres y longitud pistilo) de las especies de *Werauhia* en un bosque montano de los Cerros de la Carpintera, Costa Rica.



**Figura 5.** Proporción acumulada de semillas germinadas (n= 480 semillas) a partir del cruce intra-específico (fig. izq.) e interespecífico (fig. der.) entre *Werauhia subsecunda* (receptora de polen) y *W. ampla* (donadora de polen).



**Figura 6.** Contribución al Aislamiento (AC) relativo de diferentes barreras reproductivas, entre cuatro especies de *Werauhia* (*W. ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda*) en un bosque montano de Los Cerros de La Carpintera, Costa Rica.



### Material suplementario

**Cuadro S1.** Medidas de corola y estructuras reproductivas de las especies *Werauhia ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda* en un bosque montano de los Cerros de la Carpintera, Costa Rica. Valores reportados en milímetros (mm).

Especie	No. de flores	Longitud de Corola ( $\bar{X} \pm \sigma$ )	Ancho boca de la Corola ( $\bar{X} \pm \sigma$ )	Longitud estambres ( $\bar{X} \pm \sigma$ )	Rango longitud de estambres (min - max)	Longitud pistilo ( $\bar{X} \pm \sigma$ )
<i>W. ampla</i>	30	62.8±8.0	44.6 ± 9.8	54.0 ± 10.1	15.0 - 70.0	60.2 ± 5.3
<i>W. nephrolepis</i>	31	49.0 ± 2.5	44.4 ± 5.4	42.7 ± 4.5	34.0 - 51.0	43.4 ± 2.5
<i>W. pedicellata</i>	30	25.2±2.0	26.4 ± 3.3	19.4 ± 2.7	14.0 - 24.0	21.1 ± 2.1
<i>W. subsecunda</i>	33	29.2±2.1	17.7 ± 3.0	22.7 ± 3.9	16.5 - 30.0	24.1 ± 2.1

**Cuadro S2.** Distribución de la contribución de cada variable al análisis de componentes principales (PCA), a partir del estudio de cuatro variables florales de las especies: *Werauhia ampla*, *W. nephrolepis*, *W. pedicellata* y *W. subsecunda* en un bosque montano de los Cerros de la Carpintera, Costa Rica. Valores reportados en milímetros (mm).

Componente	PC1	PC2	PC3	PC4
<b>Variable</b>				
Longitud corola	25.9	9.3	64.2	0.5
Ancho promedio boca de la corola	21.7	78.1	0.2	0.0
Longitud estambres	26.3	5.6	12.0	56.1
Longitud pistilo	26.2	6.9	23.6	42.3