

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES

CARRERA DE BIOLOGÍA



TESIS DE GRADO

MAESTRIA TERMINAL EN BIOLOGÍA

**BIOLOGÍA DE LA POLINIZACIÓN DE *Puya ctenorhyncha*
(BROMELIACEAE), UNA ESPECIE ENDÉMICA QUE CRECE EN EL
BOSQUE NUBLADO CHUSPIPATA, LA PAZ – BOLIVIA**

POSTULANTE: Lic. PAOLA ANDREA VELÁSQUEZ NORIEGA

TUTOR: DR. LUIS F. PACHECO

ASESOR: DR. THORSTEN KRÖMER

LA PAZ – BOLIVIA

2022

**BIOLOGÍA DE LA POLINIZACIÓN DE *Puya ctenorhyncha*
(BROMELIACEAE), UNA ESPECIE ENDÉMICA QUE CRECE EN EL
BOSQUE NUBLADO CHUSPIPATA, LA PAZ – BOLIVIA**

Presentada por: Lic. Paola Andrea Velásquez Noriega

Tutor

Dr. Luis Pacheco _____

Tribunales

Ph. D. Mariana Villegas _____

Dr. Daniel Larrea _____

**Director de la Carrera de Biología
Presidente del tribunal examinador**

M.Sc. Francisco Osorio _____

La Paz – Bolivia
2022

Índice

Resumen	3
	1

I.	INTRODUCCIÓN GENERAL	4
1.	INTRODUCCIÓN	4
2.	OBJETIVOS.....	5
II.	ÁREA DE ESTUDIO.....	6
III.	MÉTODOS.....	8
1.	Especie de estudio.....	8
2.	Fenología reproductiva.....	10
3.	Características del néctar	11
4.	Visitas florales	12
IV.	RESULTADOS.....	14
1.	Fenología reproductiva	14
2.	Características del néctar	16
3.	Visitantes florales	16
V.	DISCUSIÓN.....	19
1.	Fenología reproductiva	19
2.	Características del néctar	20
3.	Visitantes florales	22
VI.	CONCLUSIONES	24
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	25

Resumen

Bolivia tiene una amplia diversidad de especies de bromelias, incluida *Puya ctenorhyncha*, una especie endémica casi amenazada que crece entre 2500 y 4050 m en el bosque nublado montano de la ecorregión Yungas en el Departamento de La Paz. Aquí describimos la fenología reproductiva, la producción y composición de azúcar de néctar de *P. ctenorhyncha* a lo largo de un transecto para determinar los patrones de actividad de los animales que visitan sus flores. Visitamos este transecto mensualmente durante dos años consecutivos; cada año determinamos la fenología reproductiva de las planta y realizamos observaciones directas en plantas focales para identificar a sus visitantes diurnos y polinizadores putativos. La época reproductiva duró de abril a agosto en el primer año y de mayo a junio en el segundo. La media del volumen de néctar fue de $8.09 \pm 1.59 \mu\text{L}$ por flor, y la composición de azúcar incluyó fructosa, glucosa y 86% de agua. Durante 341 horas en el 2019, las observaciones directas de plantas focales indicaron que el picaflor *Coeligena torquata* (Trochilidae) es el principal visitante y polinizador putativo, seguido de *C. violifer*. Los machos de ambas especies fueron visitantes más frecuentes en relación a las hembras. *Coeligena torquata* mostró la mayor actividad durante la tarde y *C. violifer* por la mañana. La fenología floral, como en otras especies de bromelias, parece ser anual y unimodal. Aunque los principales polinizadores parecen ser los picaflores como en muchas otras especies de *Puya*, la concentración y composición de néctar de *P. ctenorhyncha* son más similares a las especies de bromelias de otros géneros que son polinizadas por murciélagos o aves passeriformes. Es importante evaluar la dependencia de estos picaflores y su respuesta de comportamiento a la planta en futuros estudios.

Palabras clave: Fenología reproductiva, interacciones, néctar, picaflores, síndrome floral, Yungas.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN

En Bolivia, la familia Bromeliaceae está compuesta por 321 especies, incluidas 65 del género *Puya* Molina, que muestra una amplia distribución geográfica desde las tierras bajas tropicales hasta la vegetación de páramo de los Andes (500 - 4500 m; Smith & Downs 1974; Jabaily & Sytsma 2013; Krömer *et al.* 2014). Cincuenta y seis especies de *Puya* son endémicas del país, incluida *Puya ctenorhyncha* L.B. Sm. (Krömer *et al.* 1999, 2014). Las plantas de *Puya* son terrestres o saxicolous (rara vez epífitas), tienen un hábito arbustivo (Benzing 2000) y sus hojas espinosas suelen formar grandes rosetas, que desarrollan grandes inflorescencias con muchas flores vistosas (Varadarajan & Brown 1988; Benzing 2000). Estas flores son muy atractivas para los picaflores (Trochilidae) y representan un importante recurso alimenticio, especialmente, en grandes alturas (Kessler & Krömer 2000; Krömer *et al.* 2006; Kessler *et al.* 2020).

Las flores de *Puya* son generalmente largas, tubulares y anchas, lo que permite que muchas especies de picaflores accedan al néctar (Smith 1969; Krömer *et al.* 2006; González & Loiselle 2016). Muchos investigadores informan que los picaflores son los principales visitantes florales y polinizadores de muchas especies de *Puya* (García-Meneses & Ramsay 2012; Hornung-Leoni *et al.* 2013; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez 2017; Gonzalez *et al.* 2019; Kessler *et al.* 2020; Velásquez-Noriega *et al.* 2020); sin embargo, algunas especies de murciélagos y polillas también consumen su néctar y podrían actuar como polinizadores (Hornung-Leoni & Sosa 2005; Krömer *et al.* 2006; Aguilar-Rodríguez *et al.* 2019). También se observaron aves passeriformes utilizando las inflorescencias de la planta, principalmente como perchas, pero también mastican las corolas, a menudo destruyendo las flores (Rees & Roe 1980; Salinas *et al.* 2007; Hornung-Leoni *et al.* 2013; Velásquez -Noriega *et al.* 2020). Los patrones fenológicos y la abundancia de recursos durante diferentes períodos (por ejemplo, la aparición de flores y la cantidad de néctar disponible en una flor; Stiles 1978; González & Loiselle 2016) se configuran cuando polinizadores, granívoros, herbívoros y

dispersores de semillas explotan plantas (Fenner 1998). Las bromelias suelen tener un período de floración anual unimodal (Benzing 2000; Machado & Semir 2006; Pool-Chalé *et al.* 2018) y las especies de *Puya* muestran un período de floración bien delimitado, sin embargo, no todas las plantas florecen cada año, por lo que el número de individuos con flores varía anualmente (Janeba 2017; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez 2017; Velásquez-Noriega *et al.* 2020; Franco-Saldarriaga & Bonilla-Gómez 2021). Desde la perspectiva de los visitantes, los recursos de néctar pueden no tener una relación directa con la abundancia de plantas, lo que hace que los estudios fenológicos de varios años sean más adecuados.

La composición y concentración de azúcares en el néctar están estrechamente asociadas con visitantes de flores específicos, por lo tanto, se consideran parte del síndrome floral (Freeman *et al.* 1984; Scogin & Freeman 1984; Baker & Baker 1990). Los picaflores son los principales polinizadores de las especies de bromelias que tienen inflorescencias conspicuas con brácteas rojas y flores tubulares de color violeta, naranja o amarillo, que producen néctar rico en sacarosa (Baker & Baker 1990; Kessler & Krömer 2000; Krömer *et al.* 2006, 2008; Ornelas *et al.* 2007; Kessler *et al.* 2020). Las características morfológicas de las flores de *Puya* indican que su néctar debe ser un recurso crucial para los picaflores.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Examinar la ecología de la polinización de *Puya ctenorhyncha*, una especie endémica del bosque nublado montano de Chuspipata, Bolivia.

2.2. Objetivos Específicos

- Conocer la fenología y características florales de ésta especie.
- Examinar producción de néctar y la concentración de sus distintos azúcares.
- Determinar la riqueza y composición de visitantes florales.
- Establecer los patrones temporales de visitas (número de visita por especie).

II. ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la provincia de Nor Yungas, departamento de La Paz, Bolivia, a lo largo del Camino de la Muerte que conecta las ciudades de La Paz y Coroico. La población de nuestro estudio crece a lo largo del segmento de la carretera de Chuspipata a Sacramento, entre 2500 a 3000 m en el bosque nublado montano húmedo (16°16'8.16"S, 67°47'7.80"W - 16°17'7.88"S, 67°49'3.30" W; Figura 1). El bosque nublado de Yungas se caracteriza por la alta humedad que resulta del choque orográfico de los vientos cargados de humedad que golpean las montañas. Los Yungas reciben lluvias torrenciales y lloviznas frecuentes durante todo el año (Ribera-Arismendi 1995). El área de estudio presenta una temperatura media anual de 10.1°C, una humedad relativa media del 97.5% y una precipitación alta de 3000 mm (Bach *et al.* 2003). La comunidad vegetal está dominada por Cyatheaceae (helechos arbóreos), Piperaceae, Rubiaceae, Ericaceae, Orchidaceae, y Melastomataceae, y hay un alto dominio de trepadoras, epífitas vasculares y musgos.

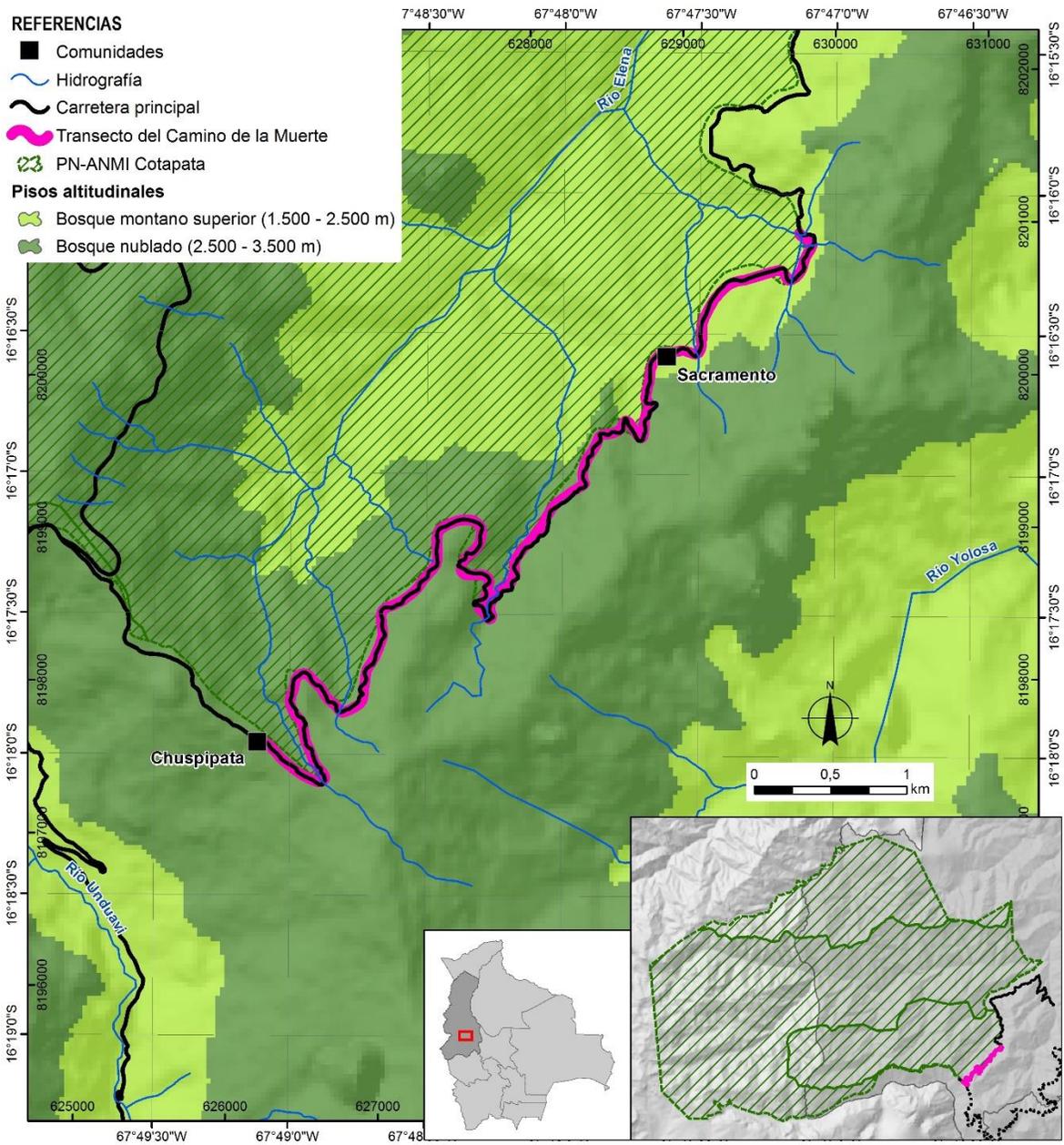


Figura 1. Ubicación del área de estudio a lo largo del “Camino de la Muerte” de Chuspipata a Sacramento en el bosque nublado de Yungas en el departamento de La Paz, Bolivia.

III. MÉTODOS

1. Especie de estudio

Puya ctenorhyncha es endémica de Bolivia, donde tiene una distribución restringida entre 2500 - 4050 m en el Departamento de La Paz (Krömer *et al.* 1999; 2014), y ha sido categorizada como Casi Amenazada por la UICN en la Lista Roja de Especies amenazadas (Mercado Ustariz *et al.* 2020). Es una planta arbustiva con una roseta basal de 1 m de diámetro y de 1.2 a 2 m de altura (Smith 1969). Tiene abundantes hojas espinosas y triangulares y crece en laderas rocosas ya sea en forma aislada o en parches densos (Figura 2). Sus hojas tienen 35 mm de ancho; glabras en la parte superior, cubiertas de escamas grises en la parte inferior, espinas laxas pardas rojizas y pubescentes, de 4 mm de largo. Las inflorescencias miden alrededor de 1 m de largo, son colgantes, grandes, densamente blancas, pubescentes y algo lanudas (Krömer 2000). Los pétalos miden 40 mm de largo, tienen un color amarillo verdoso claro (Smith 1969). Se la conoce localmente como “Flor de Oso”, ya que sus inflorescencias y rosetas sirven de alimento al oso andino (*Tremarctos ornatus*; Figura 2). Se depositó un voucher de la especie en el Herbario Nacional de Bolivia en La Paz (LPB).

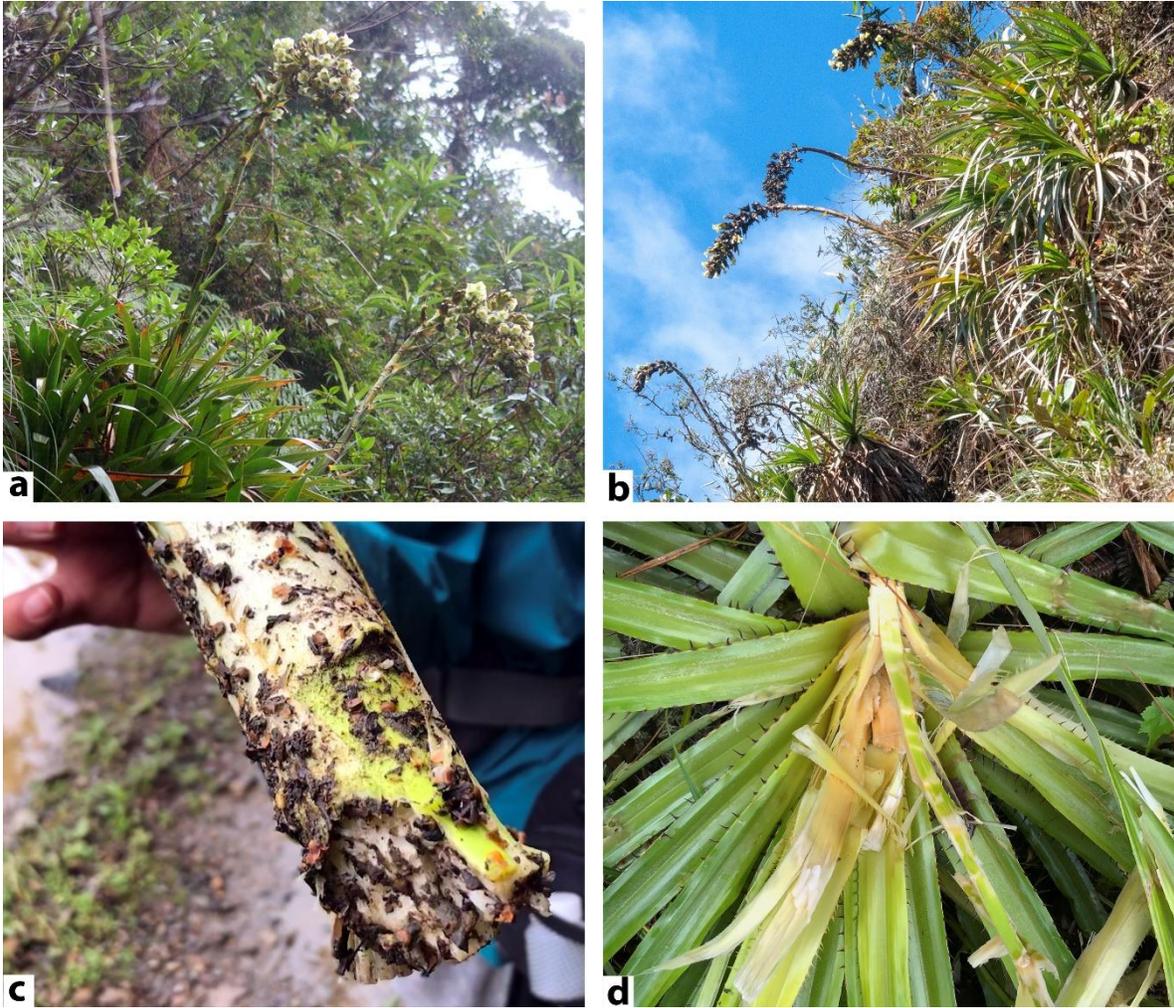


Figura 2. a. Plantas con flores de *Puya ctenorhyncha* que crecen en las laderas a lo largo del sendero "Camino de la Muerte", b. Grupo de plantas de *P. ctenorhyncha* en diferentes estados fenológicos, c. Pedúnculo de inflorescencia comido por un oso andino, d. Resto de la planta en roseta comido por el oso andino.

2. Fenología reproductiva

Visitamos el transecto cada mes desde enero de 2018 hasta diciembre de 2019 para registrar la fenología reproductiva de las plantas, siguiendo los métodos descritos en Velásquez-Noriega *et al.* (2020). Observamos y registramos la fenofase de las plantas usando binoculares y una cámara digital durante cada visita, monitoreando alrededor de 216 individuos de plantas con flores distribuidas de manera desigual en rocas y pendientes pronunciadas a lo largo del transecto de estudio. No marcamos individualmente cada planta, ya que el terreno rocoso dificultaba el acceso a todas las plantas.

Describimos las fenofases en las siguientes categorías: (1) Botón, desde la primera aparición de la inflorescencia joven dentro de la roseta, con unos 13 cm hasta alcanzar una altura de ≥ 100 cm con escapo, brácteas y brotes separados; (2) Flores, cuando las primeras corolas amarillo verdosas aparecen en la inflorescencia; (3) Flores implantadas, cuando todas las corolas han formado espirales, el tallo y los pétalos adquieren un color amarillo pardusco porque comienzan a marchitarse; (4) Frutos, cuando los frutos verdes inmaduros desarrollan una cápsula sin evidencia de dehiscencia; y (5) Frutos abiertos, cuando las cápsulas dehiscentes tienen lóbulos abiertos, para liberar semillas y toda la planta se vuelve marrón oscuro (Figura 3). A partir de todos estos datos se elaboró un diagrama de

fenología vegetal (Pereira & Quirino 2008; Rodrigues Marques & De Lemos Filho 2008).



Figure 3. Etapas fenológicas de *Puya ctenorhyncha* **a.** Conjunto de yemas, **b., c.** Flores, **d.** Flores implantadas, **e.** Frutas, **f.** Frutos abiertos con semillas.

3. Características del néctar

Con el fin de evitar que los visitantes florales entraran en contacto con las flores, cuatro inflorescencias se cubrieron completamente con bolsas de tul; no pudimos cubrir más inflorescencias, debido al difícil acceso a la mayoría de las plantas que crecen en rocas empinadas. Recolectamos el volumen total de néctar directamente de las flores aproximadamente una hora después del inicio de la antesis, entre las 7:00 y las 7:30 h, utilizando microcapilares de 80 μ l (Scogin & Freeman 1984). Solo pudimos medir cada flor una vez porque las flores se extrajeron de la inflorescencia para obtener el néctar.

Obtuvimos muestras de néctar de 12 flores individuales para estimar el volumen medio de néctar producido y determinar la composición del azúcar (García & Hoc 1998). La concentración de azúcar del néctar se midió de ocho flores usando un refractómetro de mano (Cole-Parmer RSA-BR90S, rango: 0 - 42%, Reino Unido) directamente en el campo, y la cantidad total de azúcar se calculó según Corbet (2003). Transportamos muestras de néctar en un recipiente con sílica gel al laboratorio para espectroscopia de resonancia magnética nuclear (Hölscher *et al.* 2008; Wenzler *et al.* 2008). El personal del “Laboratorio de Biorgánica” del Instituto de Investigaciones Químicas de la Universidad Mayor de San Andrés, La Paz realizó los análisis.

4. Visitantes florales

Evaluamos los visitantes florales tanto diurnos como nocturnos. En seis áreas observamos a 29 individuos en flor entre las 8:00 y las 19:00 h, 341 horas en un total de 31 días en el 2019 (Canela & Sazima 2005). Dada la baja disponibilidad de individuos en flor de *P. ctenoryncha*, elegimos un área de observación cuando al menos un individuo estaba en estado de flor. Las áreas de observación estaban separadas por al menos 100 m entre sí (González & Loiselle 2016).

Dividimos el tiempo de observación en 11 intervalos de una hora para analizar los patrones de actividad de los visitantes florales a lo largo del día, midiendo el número de visitas por hora por especie (Woods & Ramsay 2001). Esta asignación de intervalos nos permitió comparar los patrones de actividad diaria entre visitantes florales y *P. ctenoryncha*. Para los picaflores, consideramos una “visita” a cada evento en el que un individuo libaba néctar de una planta insertando su pico en una flor dentro de un intervalo de una hora (Vázquez *et al.* 2005). Para los invertebrados, registramos una visita cuando el animal tocó las estructuras reproductivas de la planta. Calculamos la frecuencia de visitas para cada especie animal utilizando el número de visitas en cada intervalo de hora.

Las visitas nocturnas de *P. ctenorhyncha* se evaluaron colocando tres cámaras trampa (Denver WCT-8010, Dinamarca) cerca de plantas con flores, ubicadas por razones logísticas y de seguridad en áreas de observación ligeramente diferentes de donde se tomaron las observaciones diurnas, durante cinco noches consecutivas. Las cámaras estaban programadas para tomar una fotografía cada cinco segundos durante un período de 12 horas cada noche (18:00 - 6:00 h). Adicionalmente, se realizaron observaciones directas en la noche entre las 19:00 - 23:00 h, por un total de 20 horas en cinco días consecutivos (Aguilar-Rodríguez *et al.* 2014).

IV. RESULTADOS

1. Fenología reproductiva

Puya ctenorhyncha tiene una floración acropétala; durante los dos años de observación, las 193 inflorescencias monitoreadas tuvieron un promedio de 15 ± 7 flores abiertas por día (CV: 49,94%; rango: 1 - 33 flores). En el primer año el número máximo de individuos en floración fue 69 (julio) y en el segundo año solo 14 (junio). Las flores siempre se abrían temprano en la mañana ($\sim 6:00$ h) y permanecían abiertas alrededor de 72 horas durante tres o cuatro días consecutivos.

El ciclo fenológico completo de *P. ctenorhyncha* duró aproximadamente 12 meses (Figura 4). La primera etapa (botón) comenzó en marzo de 2018 con un pico en mayo. Se observaron flores completamente abiertas entre abril y agosto de 2018 mostrando un patrón unimodal, y las flores implantadas estuvieron presentes principalmente en septiembre y octubre de 2018. Los frutos se desarrollaron de noviembre de 2018 a febrero de 2019 y los frutos abiertos comenzaron a liberar sus semillas en marzo de 2019, aunque la dispersión de semilla duró hasta diciembre de ese año. Curiosamente, la dispersión de semillas también estuvo presente de enero a abril de 2018 como resultado de las flores del 2017. El pico más alto de botones fue en mayo de 2018, se observó otro pequeño pico en abril de 2019, probablemente como un nuevo ciclo fenológico y se prolongó hasta diciembre de 2020. De igual forma, se observaron floraciones menores y picos de individuos implantados en 2019 de mayo a junio y de julio a octubre, respectivamente (Figura 4).

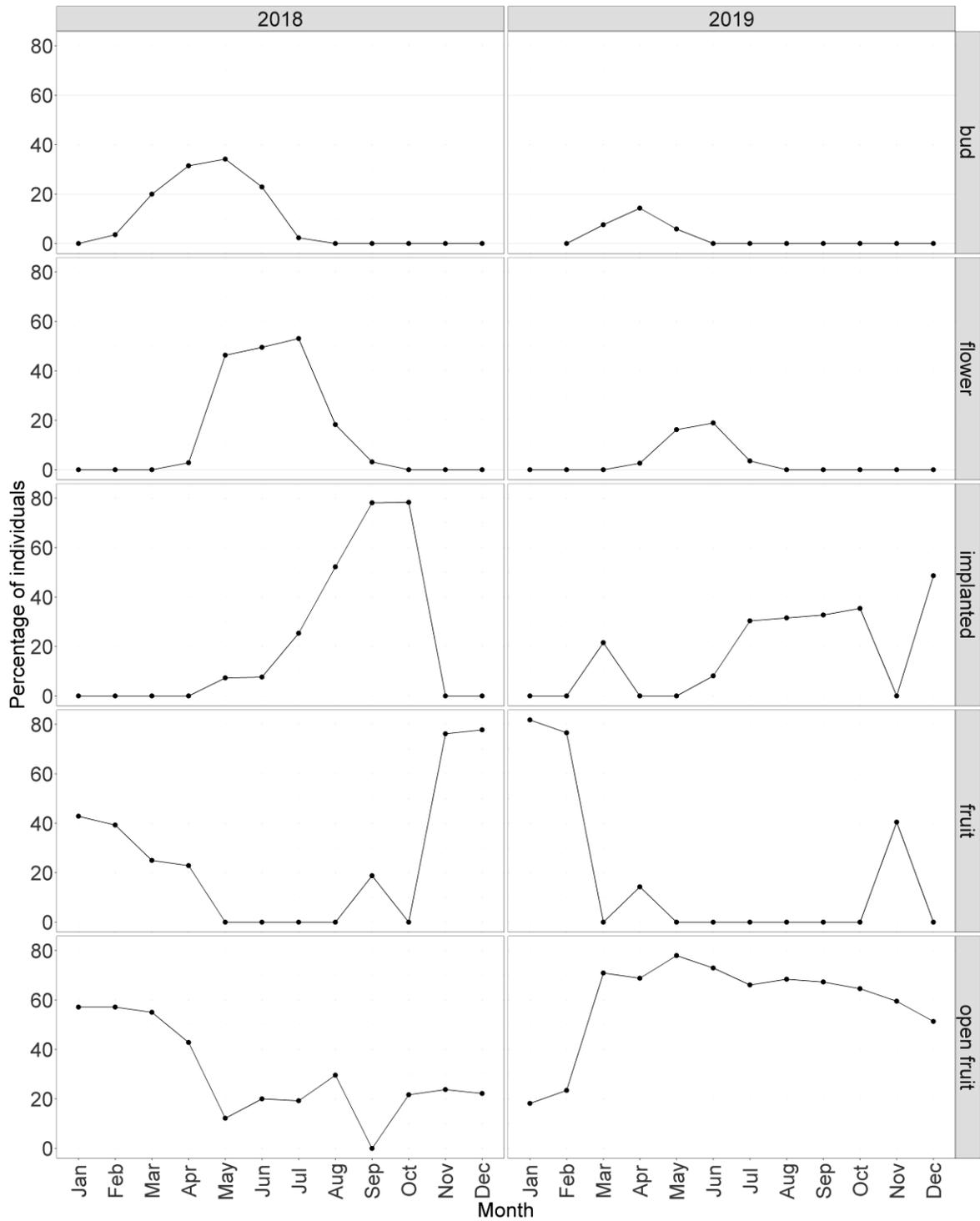


Figura 4. Etapas de fenología reproductiva de *Puya ctenoryncha* a lo largo del “Camino de la Muerte” en los Yungas de La Paz, Bolivia, durante 2018 y 2019. Cada punto representa el porcentaje de individuos muestreados por mes pertenecientes a cada etapa respectiva (botón, flor, implantado, fruto y fruto abierto).

2. Características del néctar

El volumen total promedio de néctar por flor es de $31.26 \pm 19.08 \mu\text{L}$ y $468.9 \mu\text{L}$ por inflorescencia por día ($n = 12$ flores de cuatro individuos) con una concentración promedio de azúcar de $8.56 \pm 4.5^\circ\text{Bx}$ en un rango de 2 - 16%. La composición del néctar incluía 2% de β -fructofuranosa, 2% de β -fructopiranososa, 3% de α -glucopiranososa y 7% de β -glucopiranososa, trazas de sacarosa y 86% de agua.

3. Visitantes florales

Durante nuestras observaciones diurnas, registramos visitas en 29 de los 216 individuos con flores de *P. ctenorhyncha*, por dos especies de picaflores (ambos sexos; Figura 5): el Inca Acollarado (*Coeligena torquata* Boissonneau, 1840) con el 77% de las visitas y el Inca Garganta Violeta (*Coeligena violifer* Gould, 1846) con el 23% de las visitas. Solo un macho de Ángel del Sol Garganta Amatista (*Helianthus amethysticollis* d'Orbigny & Lafresnaye, 1838) visitó la planta una vez y libó dos veces las flores. Además, se observaron algunas moscas no identificadas (Diptera) en las flores, pero ninguna de ellas tocó las anteras ni el estigma.

Durante la noche, ni las cámaras trampa ni las observaciones directas han detectado visitas de murciélagos, polillas u otros visitantes nocturnos. El único visitante registrado que observamos en las grabaciones de las cámaras trampa fue *C. torquata* a las 18:45 h.

Por lo tanto, el siguiente análisis de los patrones de actividad de los visitantes florales solo incluye las dos especies de *Coeligena*. Los machos de *C. torquata* tuvieron la mayor frecuencia de visitas (2157 visitas) con un pico de actividad entre las 15:01 y las 16:00 h (Figura 6). Las hembras de *C. torquata* visitaron flores 145 veces, con un pico de actividad entre las 13:01 - 14:00 h. Los machos de *C. violifer* (483 visitas) visitaron flores un 22%, en relación los machos de *C. torquata*, y su pico de actividad fue entre las 9:01 - 10:00 h y las 12:01 - 13:00 h; mientras que las hembras de *C. violifer* visitaron flores con tanta frecuencia como las hembras de *C. torquata* (147 visitas en total), con un pico entre las 9:01 - 10:00 h (Figura 6).



Figura 5. a. Hembra de *Coeligena violifer* en vuelo estacionario visitando una flor de *Puya ctenorhyncha*, b. Macho de *C. violifer* posado en el área de observación, c. Macho de *C. torquata* posado en el área de observación, d. Macho de *C. torquata* visitando la planta.

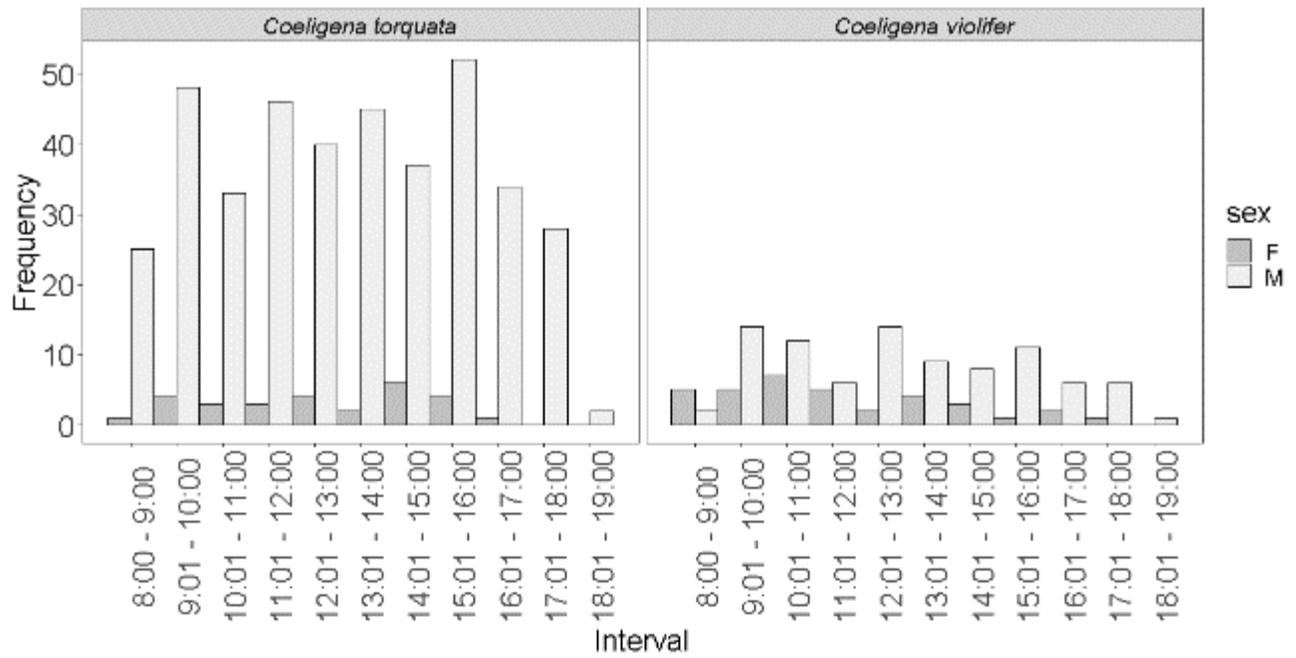


Figura 6. Frecuencia de las visitas de *Puya ctenorhyncha* por dos especies de picaflores: *Coeligena torquata* (panel izquierdo) y *C. violifer* (panel derecho). F = hembras y M = machos.

V. DISCUSIÓN

1. Fenología reproductiva

La fenología de floración de *P. ctenorhyncha* puede clasificarse en anual y unimodal, coincidente con otras especies de *Puya* (Benzing 2000; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez 2017; Velásquez-Noriega *et al.* 2020). Sin embargo, a escala poblacional, el ciclo fenológico completo, desde los botones hasta la dispersión de las semillas, dura hasta 24 meses. *Puya ctenorhyncha* muestra un patrón similar al de *P. atra* (Velásquez-Noriega *et al.* 2020), que generalmente se encuentra a más altura (3000 - 3500 m) cerca del "Camino de la Muerte" (Krömer 2000), aunque ambas especies ocurren simpátricamente en algunos sitios en el bosque nublado montano de Yungas. Las flores de *P. ctenorhyncha* están disponibles en la estación seca cuando la mayoría de las otras especies de plantas en la ecorregión de los Yungas no están floreciendo (Serrudo-González *et al.* 2012), lo que indica que representan un recurso alimenticio importante, especialmente para los picaflores (Krömer *et al.* 2006). Nuestros resultados y otras observaciones preliminares sugieren que las poblaciones de individuos con flores de varias especies de *Puya* de Bolivia son cíclicas; cuando había muchos individuos en la etapa de floración, el período de floración era más largo y le seguía un año con pocas flores y un período corto de floración.

Los datos fenológicos sugieren que *P. ctenorhyncha* muestra una estrategia de "cornucopia", en la que se produce una gran cantidad de flores diariamente durante un período de tiempo de varias semanas (Kessler *et al.* 2020). En contraste, la mayoría de las bromeliáceas, específicamente las especies epífitas, muestran una estrategia de floración en "estado estable", con plantas que producen relativamente pocas flores por día durante períodos prolongados de varias semanas o meses (Kessler *et al.* 2020). La floración acropétala y asincrónica se ha identificado previamente como una estrategia ventajosa para atraer visitantes florales y polinizadores debido al aumento de la longevidad de las flores y los recursos alimenticios (Knight *et al.* 2005). El mismo mecanismo podría ocurrir en

P. ctenorhyncha, donde las flores están disponibles durante aproximadamente cuatro meses y, por lo tanto, ofrecen recursos estables para sus polinizadores. Nuestra población de estudio tuvo flores disponibles durante un largo período, e incluso las flores individuales permanecieron abiertas durante aproximadamente 72 horas; sin embargo, los únicos visitantes observados fueron diurnos.

2. Características del néctar

El volumen medio de néctar producido por *P. ctenorhyncha* por inflorescencia por día es mayor que en *P. chilensis* Molina (358.27 μL ; Hornung-Leoni *et al.* 2013), pero similar a *P. atra* (432.4 μL ; Velásquez-Noriega *et al.* 2020). Se han informado valores más bajos por día para otras especies de *Puya*, por ejemplo, *P. alpestris* Gay (120.88 μL), *P. coerulea* Miers (62.78 μL), *P. raimondii* Harms (21,7 - 49,5 μL), *P. venusta* Phil. (23.65 μL) y *P. hamata* (4.8 – 18.3 μL ; Woods & Ramsay 2001; Hornung-Leoni *et al.* 2013). La concentración de azúcar disuelta en *P. ctenorhyncha* ($8.56 \pm 4.5^\circ\text{Bx}$) fue menor que la reportada para *P. alpestris* ($12.16 \pm 0.51^\circ\text{Bx}$) y *P. chilensis* ($12.56 \pm 1.63^\circ\text{Bx}$), mientras que otras especies como *P. hamata* ($18.3 \pm 8.2^\circ\text{Bx}$), *P. raimondii* ($20.1 \pm 0.60^\circ\text{Bx}$), *P. venusta* ($22.93 \pm 2.93^\circ\text{Bx}$) y *P. coerulea* ($22.78 \pm 0.35^\circ\text{Bx}$) mostraron valores aún mayores (Woods & Ramsay 2001; Hornung-Leoni *et al.* 2013). Por lo tanto, la concentración de azúcar de *P. ctenorhyncha* no es consistente con otras especies de *Puya* troquilófilas, pero es más similar a las de las bromelias quiropterófilas (por ejemplo, *Pitcairnia*, *Vriesea*, *Werauhia*; Baker & Baker 1990; Krömer *et al.* 2008).

El contenido de agua en el néctar de nuestra especie fue mayor (86%) que en *P. atra* (62%; Velásquez-Noriega *et al.* 2020). Por lo tanto, el néctar está relativamente diluido, lo que coincide con las preferencias reportadas para otras especies de angiospermas con el síndrome de polinización de picaflores (Baker & Baker 1990). Las soluciones de hexosa tienen una mayor osmolaridad, por lo tanto, tasas de evaporación más bajas que las soluciones de sacarosa; sin embargo, estos azúcares anteriores también tienden a requerir más agua para su formación (Abrahamczyk *et al.* 2017). Es posible que la planta a esta elevación con alta humedad atmosférica absorba agua del ambiente. No hay datos

disponibles sobre el contenido de agua de otras especies de *Puya*, aunque los picaflores dependen de la recompensa del néctar tanto por el agua como por la energía, complementan su dieta con artrópodos (Wolf *et al.* 1976; Calder 1979).

El néctar de *P. ctenorhyncha* se compone principalmente de fructosa y glucosa (es decir, rico en hexosa) y tiene solo una pequeña proporción de sacarosa, que es similar a *P. atra* (Velásquez-Noriega *et al.* 2020) y otras especies de *Puya* y bromelias polinizadas por murciélagos o aves paseriformes (Scogin & Freeman 1984; Baker & Baker 1990; Baker *et al.* 1998; Krömer *et al.* 2008). En *P. alpestris* también se ha reportado la presencia de estos tres azúcares, aunque en diferentes proporciones y en su mayoría clasificados como ricos en sacarosa, además esta planta es visitada principalmente por aves paseriformes (Hornung-Leoni *et al.* 2013). Por el contrario, *P. venusta*, *P. coerulea* y *P. chilensis* también demostraron ser ricas en hexosas y también son visitadas por aves paseriformes (Hornung-Leoni *et al.* 2013), en concordancia con el síndrome de polinización de los paseriformes. Sin embargo, no registramos ninguna visita de murciélagos o paseriformes, lo que podría sugerir que la composición del azúcar no siempre esté asociada con un cierto tipo de visitantes florales, como se observa en otros grupos de plantas, como Alooideae, Papilionoideae, Proteaceae y Ericaceae (van Wyk 1993; Barnes *et al.* 1995; Nicolson & Fleming 2003). Abrahamczy *et al.* (2017) informaron que los polinizadores son sensibles a la proporción de azúcares constituidos por sacarosa, mientras que las hexosas no proporcionan evidencia de un síndrome de polinización específico.

Los picaflores suelen preferir el néctar rico en sacarosa (Freeman *et al.* 1984; Baker & Baker 1990; Galetto & Bernardello 1992; Nicolson & Fleming 2003; Krömer *et al.* 2008) a pesar de que este azúcar se ha reportado en una pequeña proporción para *P. ctenorhyncha*.

Fisiológicamente, también pueden digerir fructosa y glucosa como fuentes de energía alternativas ya que se alimentan de una mezcla de azúcares (Chen & Welch 2014). Por lo tanto, sigue siendo posible que una restricción filogenética putativa sobre las características del néctar sea, como otros caracteres, más o menos relajada en diferentes grupos taxonómicos (Schmidt-Lebuhn *et al.* 2007). No obstante, se necesitan más estudios de otras familias de plantas y géneros de Bromeliaceae para obtener conclusiones firmes.

3. Visitantes florales

Aunque algunas de las características florales de *P. ctenorhyncha* son consistentes con el síndrome floral de los picaflores que son sus principales visitantes (por ejemplo, flores tubulares, sin olor, estambres ejercitados, anthesis en la mañana, abundante producción de néctar), no existen brácteas rojas con corolas contrastantes. Sin embargo, los picaflores también visitan especies de *Puya* con flores verdes o amarillas y brácteas marrones poco llamativas o inflorescencias lanudas, como *P. trianae* L.B. Sm. en Colombia (Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez, 2017), *P. raimondii* en Perú (Salinas *et al.* 2007), y *P. atra* cerca de nuestra área de estudio (Velásquez-Noriega *et al.* 2020). Los picaflores pueden discriminar una amplia gama de colores, incluidos los no espectrales (Altshuler 2003; Stoddard *et al.* 2020), lo que les permitiría reconocer los colores de flores atípicos de las especies de *Puya* incluso cuando hayan evolucionado para asociar los colores rojos con recompensa de néctar (Maruyama *et al.* 2013). Es probable que las visitas de los picaflores estén más relacionadas con el gran tamaño de la inflorescencia y el número de flores que con su color, ya que su tamaño puede hacerlas atractivas en relación con otras plantas con flores pequeñas en el bosque nublado montano de Yungas.

Se ha reportado que los picaflores son los principales visitantes y polinizadores putativos de la mayoría de las especies de *Puya*, independientemente de la morfología del pico o el tamaño corporal (Woods *et al.* 1998; Salinas *et al.* 2007; García-Meneses & Ramsay 2012; Hornung-Leoni *et al.* 2013; Restrepo-Chica & Bonilla-Gómez 2017; Aquino *et al.* 2018; Gonzalez *et al.* 2019), mientras que las aves paseriformes o los murciélagos pueden actuar como visitantes secundarios. Solo dos picaflores de pico largo visitaron con frecuencia las flores de *P. ctenorhyncha*, a pesar de que otras cinco especies de picaflores con picos más cortos viven en el área de estudio: *Heliangelus amethysticollis* (que visitó la planta solo una vez), *Adelomyia melanogenys* (Fraser 1849), *Agelaiocercus kingi* (Lección 1832), *Metallura tyrianthina* (Lodiges 1832) y *Chaetocercus mulsant* (Bourgier 1842) (Velásquez-Noriega *et al.* datos no publicados). Por lo tanto, las flores de *P. ctenorhyncha* pueden ser accesibles para las especies de pico corto.

El visitante floral principal de *P. ctenorhyncha* es *C. torquata*, que parece monopolizar un recurso abundante y estable ("cornucopia"), ya que observamos que un individuo podía permanecer en un área de observación todo el día. En nuestro estudio, *C. torquata* mostró un comportamiento territorial y agresivo en comparación con *C. violifer*, que actuó más como rutero. Una estrategia que incluye a los picaflores que se alimentan de recursos alimenticios renovables de parcelas de plantas aisladas a lo largo de rutas reutilizadas; Feinsinger & Colwell 1978). También, parece que el tamaño corporal determina el predominio entre especies entre los picaflores (Bribiesca *et al.* 2019), y dado que *C. torquata* es el picaflor más grande de nuestro estudio, podría monopolizar los sitios de alimentación al perseguir, atacar y permanecer alerta contra el acercamiento de otros individuos. En áreas de los Yungas donde *C. torquata* está ausente, *C. violifer* es el picaflor más agresivo (Serrudo-González *et al.* 2012) y puede adoptar el patrón de cornucopia (Kessler *et al.* 2020). En cuanto a los visitantes florales nocturnos, no se ha reportado ninguno, a pesar de las características de las flores y su néctar, como los pétalos amarillo verdoso, la composición del néctar y la concentración de azúcar, parecen ser adaptaciones para atraer visitantes nocturnos. Sin embargo, se sabe que solo el 7% de todas las bromelias en Bolivia son polinizadas por murciélagos (Kessler & Krömer 2000), lo que sugiere que podría haber muchos más casos no detectados (Aguilar-Rodríguez *et al.* 2019).

VI. CONCLUSIONES

Puya ctenorhyncha es visitada casi exclusivamente por dos especies de picaflores (*Coeligena torquata* y *C. violifer*). Su período de floración es anual, su azúcar néctar está compuesto principalmente por fructosa, glucosa y agua, con solo una pequeña proporción de sacarosa. El principal visitante floral y polinizador putativo de *P. ctenorhyncha* es *C. torquata*, que protegía las flores de otros picaflores. En cuanto a la actividad de los visitantes, los machos de ambas especies libaron flores con mayor frecuencia que las hembras. Los estudios futuros deben analizar estas interacciones entre plantas y aves con más detalle para determinar si el éxito reproductivo de la planta depende de estos picaflores como polinizadores y si el patrón de fenología floral de la planta conduce a cambios en los patrones de alimentación de los picaflores. Esta información sería clave para desarrollar estrategias adecuadas de conservación y manejo para la protección de *Puya ctenorhyncha*, una especie amenazada debido a su distribución restringida en un hábitat en peligro de extinción.

VII. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación no fue financiada por ninguna agencia pública, comercial o sin fines de lucro. Agradecemos a la gente local de Chuspipata y Carmen de Chicalulo, principalmente a Víctor Miguel Tincuta, presidente de la comunidad de Chuspipata y Sabanani, a Ricardo Lizarazu, dueño del Monozip en medio del “Camino de la Muerte”. Gracias a Yonny Flores por procesar las muestras de néctar, Jorge Quezada por prestar el equipo de escalada, Elmer Cuba por ayudar con el mapa y las fotos, Bruno Tellez y Gabriel Archondo por las fotos, y a Leila Porter, Mariana Villegas y Daniel Larrea por sus comentarios críticos. A Emilia García por la retroalimentación en la idea del estudio y a todos los voluntarios que hicieron posible este trabajo: N. Gómez, E. Alanoca, Y. Murillo, A. Lanza, B. Huanca e I. Marriquez.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamczyk, S., Kessler, M., Hanley, D., Karger, D.N., Müller, M.P.J., Knauer, A.C., Keller, F., Schwerdtfeger, M., Humphreys, A.M., 2017. Pollinator adaptation and the evolution of floral nectar sugar composition. *J. Evol. Biol.* 30, 112–127. <https://doi.org/10.1111/jeb.12991>
- Aguilar-Rodríguez, P.A., Krömer, T., Tschapka, M., García-Franco, J.G., Escobedo-Sarti, J., MacSwiney G., M.C., 2019. Bat pollination in Bromeliaceae. *Plant Ecol. Divers.* 12, 1–19. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1566409>
- Aguilar-Rodríguez, P.A., MacSwiney G., M.C., Krömer, T., García-Franco, J.G., Knauer, A., Kessler, M., 2014. First record of bat-pollination in the species-rich genus *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Ann. Bot.* 113, 1047–1055. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu031>
- Altshuler, D.L., 2003. Flower color, hummingbird pollination, and habitat irradiance in four Neotropical forests. *Biotropica.* 35, 344–355. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2003.tb00588.x>
- Aquino, W., Condo, F., Romero, J., Yllaconza, R., 2018. Distribución geográfica y poblacional de *Puya raimondii* Harms en el distrito de Huarochirí, provincia de Huarochirí, Lima, Perú. *Biol.* 16, 25–33. <https://doi.org/10.24039/rtb2018161219>
- Bach, K., Schawe, M., Beck, S., Gerold, G., Gradstein, S.R., Moraes R., M., 2003. Vegetación, suelos y clima en los diferentes pisos altitudinales de un bosque montano de Yungas, Bolivia: Primeros resultados. *Ecol. en Bolív.* 38, 3–14.

- Baker, H.G., Baker, I., 1990. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Isr. J. Bot.* 39, 157–166.
<https://doi.org/10.1080/0021213X.1990.10677140>
- Baker, H.G., Baker, I., Hodges, S.A., 1998. Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica*. 30, 559–586.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.1998.tb00097.x>
- Barnes, K., Nicolson, S.W., Van Wyk, B.-E., 1995. Nectar sugar composition in *Erica*. *Biochem. Syst. Ecol.* 23, 419–423. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(95\)00024-O](https://doi.org/10.1016/0305-1978(95)00024-O)
- Benzing, D.H., 2000. Bromeliaceae: profile of an adaptative radiation, Cambridge: ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bribiesca, R., Herrera-Alsina, L., Ruiz-Sanchez, E., Sánchez-González, L.A., Schondube, J.E., 2019. Body mass as a supertrait linked to abundance and behavioral dominance in hummingbirds: a phylogenetic approach. *Ecol. Evol.* 9, 1623–1637.
<https://doi.org/10.1002/ece3.4785>
- Calder, W.A., 1979. On the temperature-dependency of optimal nectar concentrations for birds. *J. Theor. Biol.* 78, 185–196. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(79\)90263-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(79)90263-7)
- Canela, M.B.F., Sazima, M., 2005. The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in Southeastern Brazil: ornithophilous versus melittophilous features. *Plant Biol.* 7, 411–416.
<https://doi.org/10.1055/s-2005-865619>
- Chen, C.C.W., Welch, K.C., 2014. Hummingbirds can fuel expensive hovering flight completely with either exogenous glucose or fructose. *Funct. Ecol.* 28, 589–600.
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12202>
- Corbet, S.A., 2003. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie*. 34 34, 1–10. <https://doi.org/10.1051/apido:2002049>
- Feinsinger, P., Colwell, R.K., 1978. Community organization among Neotropical nectar-feeding birds. *Am. Zool.* 18, 779–795. <https://doi.org/10.1093/icb/18.4.779>
- Fenner, M., 1998. The phenology of growth and reproduction in plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 1, 78–91. <https://doi.org/10.1109/CRMICO.2002.1137327>
- Franco-Saldarriaga, A., Bonilla-Gómez, M.A., 2021. Sexual reproductive strategies of *Puya nitida* (Bromeliaceae) in a Colombian paramo, a tropical high-elevation ecosystem. *J. Trop. Ecol.* 36, 258–266. <https://doi.org/10.1017/S0266467420000218>
- Freeman, C.E., Reid, W.H., Becvar, J.E., Scogin, R., 1984. Similarity and apparent convergence in the nectar-sugar composition of some hummingbird-pollinated flowers. *Bot. Gaz.* 145, 132–135. <https://doi.org/10.1086/337436>

Galetto, L., Bernardello, L.M., 1992. Extrafloral nectaries that attract ants in Bromeliaceae: structure and nectar composition. *Can. J. Bot.* 70, 1101–1106. <https://doi.org/10.1139/b92-136>

García-Meneses, Ramsay, P.M., 2012. Pollinator response to within-patch spatial context determines reproductive output of a giant rosette plant. *Basic Appl. Ecol.* 13, 516–523. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.08.011>

García, M.T.A., Hoc, P.S., 1998. Biología floral de *Passiflora foetida* (Passifloraceae). *Rev. Biol. Trop.* 46, 191–202.

Gonzalez, O., Díaz, C., Britto, B., 2019. Assemblage of nectarivorous birds and their floral resources in an Elfin forest of the central Andes of Peru. *Ecol. Apl.* 18, 21–35. <https://doi.org/10.21704/rea.v18i1.1302>

Gonzalez, O., Loiselle, B.A., 2016. Species interactions in an Andean bird-flowering plant network: phenology is more important than abundance or morphology. *PeerJ.* 4, 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.2789>

Hölscher, D., Brand, S., Wenzler, M., Schneider, B., 2008. NMR-Based metabolic profiling of *Anigozanthos* floral nectar. *J. Nat. Prod.* 71, 251–257. <https://doi.org/10.1021/np0705514>

Hornung-Leoni, C., Sosa, V., 2005. Morphological variation in *Puya* (Bromeliaceae): an allometric study. *Plant Syst. Evol.* 256, 35–53. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0302-z>

Hornung-Leoni, C.T., González-Gómez, P.L., Troncoso, A.J., 2013. Morphology, nectar characteristics and avian pollinators in five Andean *Puya* species (Bromeliaceae). *Acta Oecologica.* 51, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2013.05.010>

Jabaily, R.S., Sytsma, K.J., 2013. Historical biogeography and life-history evolution of Andean *Puya* (Bromeliaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 171, 201–224. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01307.x>

Janeba, Z., 2017. A new species of *Puya* (Bromeliaceae) from Coastal Peru. *Cactus Succul. J.* 89, 176–184. <https://doi.org/10.2985/015.089.0406>

Kessler, M., Abrahamczyk, S., Krömer, T., 2020. The role of hummingbirds in the evolution and diversification of Bromeliaceae: unsupported claims and untested hypotheses. *Bot. J. Linn. Soc.* 192, 592–608. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz100>

Kessler, M., Krömer, T., 2000. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. *Plant Biol.* 2, 659–669.

Knight, T.M., Steets, J.A., Vamosi, J.C., Mazer, S.J., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mitchell, R.J., Ashman, T.-L., 2005. Pollen limitation of plant reproduction:

pattern and process. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36, 467–497.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102403.115320>

Krömer, T., 2000. Distribution of terrestrial bromeliads along the La Paz to Caranavi road in. *Bromel. Soc.* 50 (4), 158–164.

Krömer, T., Kessler, M., Herzog, S.K., 2006. Distribution and flowering ecology of bromeliads along two climatically contrasting elevational transects in the Bolivian Andes. *Biotropica.* 38, 183–195. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2006.00124.x>

Krömer, T., Kessler, M., Holst, B.K., Luther, H.E., Eric, J., Ibisch, P.L., Till, W., Vásquez, R., 1999. Checklist of Bolivian Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana.* 20 (2), 201–223.

Krömer, T., Kessler, M., Lohaus, G., Schmidt-Lebuhn, A.N., 2008. Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biol.* 10, 502–511. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00058.x>

Krömer, T., Ibisch, P.L., Vásquez, R., Kessler, M., Holst, B., Luther, H.E., 2014. Bromeliaceae, in: Jørgensen, P. M., Nee, M. H., S. G. Beck, Arrázola, S., Saldias, M., (Eds.), *Catálogo de las plantas vasculares de Bolivia*. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, pp. 418–439.

Machado, C.G., Semir, J., 2006. Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. *Rev. Bras. Botânica.* 29, 163–174. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042006000100014>

Maruyama, P.K., Oliveira, G.M., Ferreira, C., Dalsgaard, B., Oliveira, P.E., 2013. Pollination syndromes ignored: importance of non-ornithophilous flowers to Neotropical savanna hummingbirds. *Naturwissenschaften.* 100, 1061–1068. <https://doi.org/10.1007/s00114-013-1111-9>

Mercado Ustariz, J., Krömer, T., Fuentes Claros, A., Meneses, R., Beck, S., 2020. *Puya ctenorhyncha*. IUCN Red List Threat. Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-1.RLTS.T131347588A131347652.es>

Nicolson, S.W., Fleming, P.A., 2003. Nectar as food for birds: the physiological consequences of drinking dilute sugar solutions. *Plant Syst. Evol.* 238, 139–153. <https://doi.org/10.1007/s00606-003-0276-7>

Ornelas, J.F., Ordano, M., De-Nova, A.J., Quintero, M.E., Garland J. R., T., 2007. Phylogenetic analysis of interspecific variation in nectar of hummingbird-visited plants. *J. Evol. Biol.* 20, 1904–1917. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01374.x>

Pereira, F.R.D.L., Quirino, Z.G.M., 2008. Fenologia e biologia floral de *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) na Caatinga Paraibana. *Rodriguésia.* 59, 835–844.

- 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 Biol.* 20, 113–120. <https://doi.org/10.1111/plb.12645>
- Rees, W.E., Roe, N.A., 1980. *Puya raimondii* (Pitcairnioideae, Bromeliaceae) and birds: an hypothesis on nutrient relationships. *Can. J. Bot.* 58, 1262–1268. <https://doi.org/10.1139/b80-157>
- Restrepo-Chica, M., Bonilla-Gómez, M.A., 2017. Dinámica de la fenología y visitantes florales de dos bromelias terrestres de un páramo de Colombia. *Rev. Mex. Biodivers.* 88, 636–645. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.07.008>
- Ribera-Arismendi, M. O. 1995. Aspectos ecológicos, del uso e la tierra y conservación en el parque nacional y área natrual de manejo integrado Cotapata, in: Morales, C. (Eds.), *Caminos de Cotapata*, Artes Gráficas Latina, La Paz, Bolivia, pp 1-84.
- Rodrigues Marques, A., De Lemos Filho, J.P., 2008. Fenologia reproductiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. *Acta Bot. Brasilica.* 22, 417–424. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062008000200011>
- Salinas, L., Arana, C., Suni, M., 2007. El néctar de especies de *Puya* como recurso para picaflores altoandinos de Ancash, Perú. *Rev. Peru. Biol.* 14, 129–134. <https://doi.org/10.15381/rpb.v14i1.2166>
- Schmidt-Lebuhn, A.N., Schwerdtfeger, M., Kessler, M., Lohaus, G., 2007. Phylogenetic constraints vs. ecology in the nectar composition of Acanthaceae. *Flora Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants.* 202, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2006.02.005>
- Scogin, R., Freeman, C.E., 1984. Floral pigments and nectar constituents in the genus *Puya* (Bromeliaceae). *Aliso.* 10, 617–619. <https://doi.org/10.5642/aliso.19841004.10>
- Serrudo-González, V., Arteaga-Voigt, D., Fuentes-Bazán, S., García-Estigarribia, E., Luna-Barrón, R., 2012. Estrategias de forrajeo de cuatro especies de picaflores (Aves, Trochilidae) en la ceja de monte yungueña (La Paz, Bolivia). *Ecol. en Bolív.* 47, 143–147.
- Smith, L.B., 1969. The Bromeliaceae of Bolivia. *Rhodora.* 71, 35–57.
- Smith, L.B., Downs R.J., 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monograph. No. 14, Part 1.* Hafner Press, New York.
- Stiles, F.G., 1978. Temporal organization of flowering among the hummingbird foodplants of a Tropical Wet Forest. *Biotropica.* 10, 194. <https://doi.org/10.2307/2387905>
- Stoddard, M.C., Eyster, H.N., Hogan, B.G., Morris, D.H., Soucy, E.R., Inouye, D.W., 2020. Wild hummingbirds discriminate nonspectral colors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117,

15112–15122. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919377117>

van Wyk, B.-E., 1993. Nectar sugar composition in Southern African Papilionoideae (Fabaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 21, 271–277. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(93\)90045-5](https://doi.org/10.1016/0305-1978(93)90045-5)

Varadarajan, G.S., Brown, G.K., 1988. Morphological variation of some floral features of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. *Bot. Gaz.* 149, 82–91. <https://doi.org/10.1086/337694>

Vázquez, D.P., Morris, W.F., Jordano, P., 2005. Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecol. Lett.* 8, 1088–1094. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00810.x>

Velásquez-Noriega, P., Mayta, C., Cuba, E., García E., E., Montaña-Centellas, F., Krömer, T., 2020. Floral ecology and floral visitors of *Puya atra* (Bromeliaceae), a Bolivian endemic plant. *Ecol. en Bolív.* 55, 36–45.

Wenzler, M., Hölscher, D., Oerther, T., Schneider, B., 2008. Nectar formation and floral nectary anatomy of *Anigozanthos flavidus*: A combined magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *J. Exp. Bot.* 59, 3425–3434. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern191>

Wolf, L.L., Stiles, F.G., Hainsworth, F.R., 1976. Ecological organization of a tropical, highland hummingbird community. *J. Anim. Ecol.* 45, 349. <https://doi.org/10.2307/3879>

Woods, S., Ortiz-Crespo, F., Ramsay, P.M., 1998. Presence of giant hummingbird *Patagona gigas* and Ecuadorian hillstar *Oreotrochilus chimborazo jamesoni* at the Ecuador - Colombia border. *Cotinga.* 10, 37–40.

Woods, S., Ramsay, P.M., 2001. Variability in nectar supply: implications for high-altitude humminbirds, in: Ramsay, P. M. (Eds.), *The ecology of volcán Chiles: high-altitude ecosystems on the Ecuador-Colombia border*, Ecuador - Colombia, pp. 209–217.