



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
Posgrado en Ciencias Biológicas

**EVOLUCIÓN DE CARACTERES DE HISTORIA
DE VIDA Y TASAS DE DIVERSIFICACIÓN DE
LA FAMILIA BROMELIACEAE**

Tesis que presenta

GUADALUPE JEANETT ESCOBEDO SARTI

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

Septiembre 2013



CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A.C.

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO



Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis titulado **"Evolución de caracteres de historia de vida y tasas de diversificación de la familia Bromeliaceae"** fue realizado en los laboratorios de la **Unidad de Recursos Naturales** del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección de la Dra. **Ivón Mercedes Ramírez Morillo**, dentro de la opción **Doctorado después de Maestría**, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

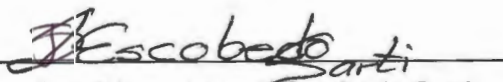
Atentamente,

Dr. Felipe Augusto Vázquez Flota
Coordinador de Docencia
Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Mérida, Yucatán, México; a 8 de septiembre de 2013

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: 
Nombre: Guadalupe Jeanett Escobedo Sarti

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por la vida, por la oportunidad que me dio de seguir estudiando.

Gracias a CONACyT por otorgarme la beca no. 200523, para realizar mis estudios de Doctorado y gracias al Posgrado en Ciencias Biológicas, opción Recursos Naturales del CICY.

Gracias a mi familia, por todo su amor, su apoyo, muchas gracias por financiar parte de mi estancia en Mérida, gracias por financiar los boletos de avión para realizar mi trabajo de campo en Oaxaca durante el primer año del posgrado.

Gracias a Barbara Bodenhorn y a Laura Barraza, por invitarme a participar en los intercambios culturales y científicos del 2006-2010, y por financiar en el 2008, mi estancia y transporte a Barrow, Alaska a través de la National Science Foundation de los Estados Unidos, por medio del proyecto Award 081635 (Alaska/Mexico cultural-scientific interchange) 2008-2012.

Gracias al CICY, por la beca de movilidad académica CICY 2011-II, que me otorgó para realizar una estancia en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, gracias a la Dra. Susana Magallón por abrirme las puertas de su laboratorio.

Gracias a CONACyT por la beca mixta y al CICY por la beca de movilidad académica CICY 2012-II que me otorgaron, este financiamiento me permitió realizar mi estancia doctoral en Harvard University Herbaria y en el Jardín Botánico de Missouri. Gracias Dr. Gustavo Romero por fungir como asesor externo durante la estancia, por las facilidades que me brindó para realizar parte de mi investigación en HUH.

Gracias a las investigadoras que conformaron el primer comité tutorial: Dras. Ivón Ramírez Morillo, Demetria Mondragón Chaparro, Luz María Calvo-Irabién y Azucena Canto Aguilar. En particular, gracias Dra. Demetria Mondragón Chaparro por la asesoría que me brindó para desarrollar el primer proyecto de tesis doctoral: "Dinámica poblacional de *Tillandsia carlos-hankii*, y su biología reproductiva", así como por el tiempo que dedicó a discutir artículos referentes al tema (vía Skype); muchas gracias por financiar las salidas a campo en Oaxaca, así como por su apoyo técnico y logístico. Gracias a las Dras. Luz Maria Calvo-Irabién y Azucena Canto, por las recomendaciones que hicieron durante los primeros dos exámenes tutoriales.

Gracias a los investigadores que integraron el segundo comité tutorial: Dra. Ivón Ramírez Morillo, Dra. Demetria Mondragón Chaparro, Dr. Rodrigo Duno y Dr. Germán Carnevali. En

particular, al Dr. Germán Carnevali le agradezco que me haya dicho que existía el método de superárbol, y que era una alternativa para iniciar un nuevo proyecto de tesis doctoral. Al Dr. Rodrigo Duno gracias por las ideas que aportó durante cada examen tutorial, por su entusiasmo y todas las sugerencias.

Muchas gracias Dra. Susana Magallón Puebla, por la asesoría teórica y metodológica que me brindó, por toda la literatura que me facilitó, por platicarme de las tasas de diversificación y ayudarme a hacer el análisis. Le agradezco mucho las “pistas” que me dio para mejorar este proyecto de tesis, en verdad gracias por todo el apoyo, el tiempo, y por su paciencia.

Muchas gracias Carlos Luis Leopardi Verde por enseñarme la teoría referente a los modelos de evolución de caracteres que utilicé en el capítulo IV de la tesis. Te agradezco mucho el tiempo que dedicaste a discutir diferentes artículos (de métodos filogenéticos, métodos de súper-árbol, modelos de evolución, tasas de diversificación, entre otros); muchas gracias por enseñarme a usar los diferentes programas que utilice para el desarrollo de este estudio, gracias por prestarme tu laptop cuando mi máquina no era suficiente para hacer algunos análisis o cuando el programa no funcionaba en mi laptop. Gracias por enseñarme a trabajar con ejemplares de herbario, gracias por el material fotográfico, muchísimas gracias por todo.

A Eric Gouda (Utrecht University Botanic Gardens) por el material fotográfico de Bromeliaceae que me facilitó.

A la Dra. Demetria Mondragón Chaparro, Dra. Ivón Ramírez Morillo, Dra. Miriam Ferrer Ortega, Dra. Susana Magallón Puebla y al Dr. Rodrigo Duno, les agradezco el tiempo que dedicaron a revisar el documento final de la tesis, gracias por las sugerencias que hicieron para mejorar el escrito.

Gracias a los técnicos de la línea de Sistemática y Florística, Lilia Can Itzá, Ma. Dolores Chan Puc, Amilcar Castillo, Silvia Hernández Aguilar y José Luis Muñoz Tapia, por su ayuda para conseguir algunas publicaciones.

Gracias Dr. Juan Manuel Dupuy, por su apoyo como coordinador del posgrado en ciencias biológicas, opción recursos naturales del CICY.

Gracias al personal de la biblioteca, a Narce Gamboa, Miriam Juanqui, Sergio Pérez por su amistad y su apoyo con la literatura.

Gracias a las familias: Gamboa Angulo, Valencia Rito, Vargas Alonso y Soloveichik Puente por su amistad, hospitalidad y apoyo.

Gracias a los compañeros y amigos del posgrado, por su amistad y hospitalidad.

DEDICATORIA

"Bendice alma mía al Señor, y no olvides ninguno de sus beneficios,
Él es quien te corona de favores y misericordias"

Salmos 103:1

Dedico esta tesis a los motores de mi vida:

Al **Dios** Todopoderoso del que habla la Biblia (ese es el Dios en quien yo creo). Gracias porque fuiste mi refugio, mi consuelo, mi amigo, mi maestro, quien abrió mi entendimiento cuando lo único que leía en los artículos y libros eran palabras que no entendía. Para mí, esta tesis es un milagro, pues después de un año de estar en el posgrado, me di cuenta que debía empezar de cero, y que no tenía ni la más remota idea para desarrollar una nueva tesis doctoral, que no había financiamiento, que no tenía el conocimiento, que aun el lenguaje académico en esta área me era ajeno... Pero Dios, tu estabas ahí, cuando te pedí con todo mi corazón y fe tu ayuda, tu respuesta llegó, casi casi como un plan de auxilio en caso de desastre (similar al DN-III E de la Secretaria de la Defensa Nacional); fuiste acomodando las piezas del rompecabezas, libros, artículos, amigos, asesoría, etc. Gracias por este milagro, gracias por la oportunidad me diste de seguir estudiando.

A mi **familia**, por su amor, apoyo, consejos, comprensión, ayuda en los momentos difíciles y por proveer los recursos necesarios para estudiar. Gracias por impulsarme y gracias por no dejarme tirar la toalla, gracias por la confianza que tuvieron en mí, sin su apoyo hubiera sido imposible. Los amo.

ÍNDICE GENERAL
PÁGINA

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	5
Objetivos	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	7
CAPÍTULO II. INTEGRATING PHYLOGENETIC INFORMATION FOR THE FAMILY BROMELIACEAE (POALES, MONOCOTYLEDONAE)	11
Abstract	11
Introduction	11
Materials and Methods	14
Results	15
Discussion	15
Conclusions	31
Acknowledgements	32
CAPÍTULO III. A PHYLOGENY OF BROMELIACEAE (POALES, MONOCOTYLEDONAE) DERIVED FROM AN EVALUATION OF NINE SUPERTREE METHODS	41
Abstract	41
Introduction	41
Materials and Methods	44
Results	50
Discussion	55
Conclusions	61
Acknowledgements	62

CAPÍTULO IV. EVOLUCIÓN DE CARACTERES DE HISTORIA DE VIDA Y TASAS DE DIVERSIFICACIÓN DE LA FAMILIA BROMELIACEAE	71
Resumen	71
Introducción	71
Materiales y métodos	76
Resultados	79
Discusión	86
Conclusiones	99
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL	107
ANEXO 1. Matriz de estados de carácter utilizada para la reconstrucción de la evolución de los caracteres presentados en el capítulo IV	115

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

Figure II.1. Phylogenetic scheme of the Bromeliaceae family	13
Figure II.2. Representative species of Bromeliaceae subfamilies	19
Figure III.1. Schematic representation of methodologies used in this study	45
Figure III.2. Overlapping outline of published phylogenies in Bromeliaceae	48
Figure III.3. Comparison of the reference tree (supermatrix) with the (A) best supertree obtained in this study (SuperFine based in PST) and the (B) worse supertree obtained in this study from (MSS based on PST)	53
Figure III.4. (Part I) Bromeliaceae supertree constructed with SuperFine based on LST	55
Figure III.5. (Part II) Bromeliaceae supertree constructed with SuperFine based on LST	56
Figura IV.1. Reconstrucción de la evolución del habito en la familia Bromeliaceae	81
Figura IV.2. Reconstrucción de la evolución del tipo de fotosíntesis en la familia Bromeliaceae	82
Figura IV.3. Reconstrucción de la evolución del sistema sexual en la familia Bromeliaceae	83
Figura IV.4. Reconstrucción de la evolución del síndrome de polinización en la familia Bromeliaceae	84
Figura IV.5. Reconstrucción de la evolución del síndrome de dispersión de semillas en la familia Bromeliaceae.	85

ÍNDICE DE CUADROS
PÁGINA

Table II.1.	Published studies on the phylogeny of Bromeliaceae	16
Table II.2.	Percentage of subfamilies and genera sampled in phylogenetic studies for Bromeliaceae	20
Table III.1.	General information about DNA regions used to build the supermatrix .	46
Table III.2.	Values for the measures of goodness of fit for the partition cladistic Source Trees (PST)	51
Table III.3.	Values of Consensus Fork Index (CFI), Robinson-Foulds distances (RF), Normalized Partition Metric Index (NPM), Patristic Distance Co- efficient (PDC), test of Shimodaira and Hasegawa (SH) of the su- pertrees used in the comparison of the nine methods	52
Table III.4.	rQS values for supertrees generated in this study	53
Table III.5.	Values of Consensus Fork Index (CFI), and Normalized Partition Met- ric Index (PM) for the resulting supertrees built with 26, 23, 18, and 10 phylogenies of Bromeliaceae	57
Cuadro IV.1.	Caracteres y estados de carácter estudiados	77
Cuadro IV.2.	Tiempos de divergencia para las subfamilias de Bromeliaceae, toma- dos de Givnish <i>et al.</i> (2011)	79
Cuadro IV.3.	Valores de señal filogenética (λ) y de probabilidad (P)	79
Cuadro IV.4.	Tendencias en la evolución de caracteres de la familia Bromeliaceae, estimadas a partir de los valores de delta (δ) y kappa (κ)	86
Cuadro IV.5.	Tasas de diversificación para los grupos corona de familia Bromelia- ceae y sus subfamilias	86

LISTA DE ABREVIATURAS

χ^2	Prueba de ji-cuadrado
δ	Delta de Pagel
ϵ	Tasa de extinción
κ	Kappa de Pagel
λ	Lambda de Pagel
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Avcon	Average consensus
CAM	Crasulacean Acid Metabolism
CFI	Consensus Fork Index
CI	Consistency Index
DNA	Deoxyribonucleic acid
LST	Literature Source Trees
MMC	Modified Mincut Supertree
MRP	Matrix representation with Parsimony
MSS	Most similar supertree
NPM	Normalized Partition Metric
PDC	Patristic Distance Coefficient
PhySIC_IST	Phylogenetic Signal with Induction and Non-contradiction
PST	Partition Source Trees
RF-ST	Robinson-Foulds supertree
RI	Retention Index
rQS	Qualitative Support reduced
s. str.	<i>Sensu stricto</i>
SDM	Super distance matrix
Sfit	Maximum splits fit
SH	Shimodaira-Hasegawa Test

RESUMEN

Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) es una familia de plantas Neotropicales que constituyen un grupo muy diverso (ca. 3346 especies y 58 géneros). En esta tesis se revisaron 33 estudios filogenéticos publicados a la fecha para la familia, con el propósito de explorar los avances en el conocimiento de sus relaciones. Se identificaron los grupos de la familia que requieren una revisión urgente; así como grupos que han sido poco muestreados, como por ejemplo las subfamilias Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae y Navioideae. Algunos de los mayores retos de la investigación sistemática actual, centrada en bromelias, son (1) la circunscripción y entendimiento de las relaciones genéricas y (2) la integración de la información filogenética disponible, que para la familia es dispersa y fragmentaria. El segundo punto fue abordado en esta tesis. Para ello se utilizó el enfoque del superárbol, con el propósito de integrar la información filogenética disponible en una sola hipótesis. Este enfoque requirió el desarrollo de una estrategia experimental para comparar el comportamiento de nueve métodos de superárbol (Avcon, MSS, MinFlip, MMC, MRP, PhySIC_IST, Robinson-Foulds Supertree, Sfit y Superfine) y decidir cuál es el más adecuado para el caso de las Bromeliaceae. Los superárboles fueron comparados con un árbol de referencia, generado a partir del análisis de ML de una supermatriz integrada por 120 taxa y siete regiones de cpDNA. La comparación entre los superárboles y el árbol de referencia, se hizo con los índices CFI, NPM y PDC y la prueba de Shimodaira-Hasegawa. La integración de las filogenias publicadas para Bromeliaceae en una sola hipótesis no fue enteramente exitosa, debido a la falta de solapamiento entre las filogenias. El método de SuperFine generó el mejor superárbol, aunque sólo fue posible integrar cuatro filogenias en una hipótesis. El superárbol construido con el método de SuperFine fue usado como marco filogenético para estudiar la evolución del habito, la ruta fotosintética, el sistema sexual, el síndrome de polinización, y de dispersión de semillas en la familia Bromeliaceae. Subsecuentemente, las tasas de diversificación fueron calculadas para cada subfamilia. Los resultados indican que el habito, la ruta fotosintética, y los síndromes de dispersión de semillas, han evolucionado rápidamente, y su evolución se enfoca en los nodos ancestrales. En contraste, la evolución del síndrome de polinización y sistema sexual ha sido gradual. La tasa de diversificación más alta entre las subfamilias la presentan las Bromelioideae ($r_{0,0} = 0.69$, $r_{0,9} = 0.50$), seguida de Pitcairnioideae ($r_{0,0} = 0.48$, $r_{0,9} = 0.34$), mientras las tasas más bajas las presentaron Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.07$) y Hechtioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$). La evolución de CAM, el habito epífita y la presencia de semillas anemocoras, autocoras o zoocoras y la ornitofilia, podrían estar asociados con la diversificación de la familia.

ABSTRACT

Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) is a Neotropical plant family that constitutes a highly diverse group (ca. 3346 species and 58 genera). Bromeliaceae has been divided into eight subfamilies: Brocchinioideae, Bromelioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae, and Puyoideae. We reviewed the 33 phylogenetic studies currently published, to explore the advances in knowledge about relationships within the family. It was gained insight about the groups of the family that need urgent revision, and the groups have been poorly studied i.e., subfamilies Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae, and Navioideae. Some of the great challenges of systematic research are (1) the circumscription and understanding of generic relationships, and (2) the integration of the scattered phylogenetic information. The second point was addressed in the thesis using a supertree framework to integrate the available information of Bromeliaceae in one hypothesis. This framework required the development of an experimental strategy for comparing the performance of nine supertree methods (Avcon, MSS, MinFlip, MMC, MRP, PhySIC_IST, Robinson-Foulds Supertree, Sfit, and SuperFine), and then decide which method is more suitable for the Bromeliaceae case. Supertrees were compared with a reference tree, generated from the ML analysis of a supermatrix integrated by 120 taxa and seven cpDNA regions. The comparison among the supertrees and the reference tree, was made with the CFI, NPM and PDC indexes, and Shimodaira-Hasegawa Test. Integrating the published phylogenies for the Bromeliaceae in a single phylogenetic hypothesis was not entirely successful, due to the lack of overlap between phylogenies. The SuperFine method generated the best supertree, albeit it was only possible integrate four phylogenies in a hypothesis of relationships congruent with current phylogenetic knowledge of the family. The supertree constructed with SuperFine method was used as phylogenetic framework for studying the evolution of the habit, the photosynthetic pathway, sexual system, pollination syndromes, and seed dispersal syndromes in the family Bromeliaceae. Subsequently, the diversification rates were calculated for each subfamily. The results indicate that the habit, the photosynthetic pathway, and seed dispersal syndromes, have evolved rapidly, and its evolution focuses on ancestral nodes existing lineages. In contrast, the evolution of pollination syndrome and sexual system has been gradual. The highest diversification rate among the presents Bromelioideae subfamilies ($r_{0,0} = 0.69$, $r_{0,9} = 0.50$), followed by Pitcairnioideae ($r_{0,0} = 0.48$, $r_{0,9} = 0.34$), while the lowest rates subfamilies presented Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.07$) and Hechtioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$). The evolution of the CAM, the epiphytic habit and the presence of anemochorous, autochorous or zoochorous seeds and the ornithophily, could be associated with the diversification of the family.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Con base en sinapomorfias moleculares y morfológicas, la familia Bromeliaceae se ha propuesto como un grupo natural dentro de las monocotiledóneas (APG II, 2003; Smith y Till, 1998). Estas plantas, que constituyen un grupo morfológicamente distintivo, también presentan una amplia diversidad de formas, además de otros caracteres, tales como: fotosíntesis CAM, tricomas absorbentes, hojas arrosetadas que en conjunto funcionan como un tanque, parénquima acuoso, etc. (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Quezada y Gianoli, 2011; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Medina, 1974). Estos caracteres les han permitido ocupar tanto el hábito terrestre, como el epífito y el rupícola, en ecosistemas de América tropical y subtropical (Benzing, 2000).

Las Bromeliaceae, son también diversas en sus estrategias reproductivas, pues presentan diferentes síndromes de polinización (entomofilia, ornitofilia, quiropterofilia; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Matallana, 2010); sistemas sexuales (hermafroditas, dioicos, monoicos, andromonoicos y poligamomonoicos; Smith y Till, 1998); sistemas de cruzamiento (cleistógamas, autóгамas autocompatibles, autóгамas con una incompatibilidad parcial, mixtos; Matallana, 2010; González, 2004; Martinelli, 1994). Según Benzing (2000), en esta familia, también se presentan varios mecanismos de dispersión de semillas: por viento (anemocoras), por movimientos balísticos (autocoras), por animales (zoocoras), y probablemente por agua (hidrocoras).

Se ha propuesto que el hábito epífito, el sistema sexual hermafrodita, el síndrome de polinización por aves, el síndrome de dispersión de semillas por animales y la vía metabólica CAM, son caracteres de historia de vida que podrían estar asociados a la diversificación de la familia Bromeliaceae (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Quezada y Gianoli, 2011; Matallana, 2010; Schulte *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Medina, 1974).

Existen estudios de evolución de estos caracteres que han contribuido a una mejor comprensión de la historia evolutiva de la familia, sin embargo, el número de taxa incluidos en las hipótesis de evolución de caracteres, hasta ahora son pocos (Givnish *et al.*, 2011). Por lo que es necesario realizar estudios con hipótesis filogenéticas mas incluyentes que permitan una mayor comprensión de los fenómenos evolutivos de esta familia.

Estudiar los patrones macro-evolutivos de la familia Bromeliaceae es importante porque permiten entender los cambios que han sufrido las especies en tiempos geológicos y que han dado lugar a la diversidad actual del grupo. Desde hace tiempo se reconoce que hay dos

componentes que afectan a los patrones de evolución: el componente de adaptación al ambiente y el propio del linaje (el cual no varía con el medio ambiente). Se han desarrollado técnicas que permiten inferir la contribución relativa de estos dos componentes, incorporando el patrón de cambio evolutivo directamente en los análisis comparativos, lo cual ha dado lugar a una revitalización de este campo (Harvey y Pagel, 1991). La reconstrucción de estados ancestrales es un método poderoso para entender los caminos y patrones de la evolución de caracteres, estos métodos son la base de nuestro entendimiento actual de los procesos evolutivos (Xiang y Thomas, 2008).

Para responder preguntas de procesos macro-evolutivos, es necesario contar con filogenias robustas del grupo en estudio. El método de superárbol ofrece una excelente oportunidad para examinar la naturaleza de procesos evolutivos, porque a partir de ellos se pueden generar hipótesis filogenéticas basados en múltiples líneas de evidencia, integrando así la información filogenética de los taxa de interés (Bininda-Emonds *et al.*, 2002).

Un superárbol es un árbol que amalgama, sintetiza o representa las relaciones filogenéticas incluidas en un conjunto de árboles fuente, porque usa topologías en lugar de datos primarios en el análisis (Bininda-Emonds *et al.*, 2002). Entre las principales aplicaciones de los métodos de superárbol están, evaluar la congruencia entre las hipótesis filogenéticas de un grupo en particular, revelar taxa con posiciones filogenéticas inestables, así como taxa que han sido poco muestreados, entre otras; además proveen un marco filogenético integral para estudios de evolución (Stoner *et al.*, 2003) y de riqueza de especies (Salamin y Davies, 2004).

Dado que no existen estudios de evolución de caracteres de historia de vida asociados a las tasas de diversificación para la familia Bromeliaceae, en esta tesis se plantea el estudio de evolución de cinco caracteres de historia de vida, utilizando como marco filogenético una hipótesis construida con el método de superárbol y se calculan las tasas de diversificación para las subfamilias, esto con el interés de sugerir explicaciones a los cambios que han sufrido las bromelias y que ha dado lugar a su diversidad actual.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Estudiar la evolución de caracteres de historia de vida de la familia Bromeliaceae, con un marco filogenético robusto, e inferir si estos caracteres están asociados a su diversificación.

Objetivos específicos

1. Presentar una visión general del conocimiento filogenético actual de Bromeliaceae, a partir de todas las hipótesis de relaciones publicadas para la familia, considerando tanto los estudios morfológicos, como los moleculares disponibles.
2. Integrar la información filogenética de la familia Bromeliaceae, con el método de superárbol.
3. Inferir la evolución de caracteres de historia de vida de la familia Bromeliaceae.
4. Calcular las tasas de diversificación a nivel subfamilia de Bromeliaceae.

Estos cuatro objetivos son desarrollados en los siguientes capítulos. El capítulo II, es una revisión del estado del arte del conocimiento de las relaciones filogenéticas de la familia Bromeliaceae. En este capítulo, se incluye una compilación de todas las hipótesis filogenéticas publicadas para la familia, construidas a partir de diferentes tipos de evidencia (morfológica y molecular) y una discusión sobre los avances en el conocimiento de las relaciones de parentesco, así como también se identifican los grupos más y menos estudiados dentro de Bromeliaceae (objetivo 1).

En el capítulo III, se integra la información filogenética disponible de Bromeliaceae en una sola hipótesis, utilizando el método del superárbol. Este capítulo incluye una comparación entre nueve variantes del método de superárbol: Avcon, MSS, MinFlip, MMC, MRP, PhysIC_IST, Robinson-Foulds Supertree, SFIT y SuperFine, así como una discusión referente al desempeño de estos métodos (objetivo 2).

El capítulo IV es un análisis de evolución de caracteres de historia de vida, usando modelos probabilísticos de evolución, y también incluye el cálculo de las tasas de diversificación de las subfamilias reconocidas para la familia Bromeliaceae (objetivos 3 y 4). El capítulo V es una discusión general, en ella se integran los temas desarrollados en los capítulos 2–4; este último capítulo incluye las conclusiones generales.

BIBLIOGRAFÍA

- APG II (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399–436.

- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 690 p.
- Bininda-Emonds, O., J. Gittleman y M. Steel (2002). The (Super)Tree of Life: Procedures, Problems, and Prospects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 265–289.
- Crayn, D., K. Winter y J. Smith (2004). Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology*, 101: 3703–3708.
- Givnish, T., M. Barfuss, B. Van Ee, R. Riina, K. Schulte, R. Horres, P. Gonsiska, R. Jabaily, D. Crayn, J. Smith, K. Winter, G. Brown, T. Evans, B. Holst, H. Luther, W. Till, G. Zizka, P. Berry y K. Sytsma (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98: 1–24.
- Givnish, T., K. Millam, P. Berry y K. Sytsma (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso*, 23: 3–26.
- González, J. (2004). *Biología de la Reproducción y Variación Isoenzimática en Tillandsia elongata Kunth var. subimbricata (Baker) L. S. Sm y Tillandsia brachycaulos Schltdl. (Bromeliaceae), en el Parque Nacional de Dzibilchaltún, Yucatán, México*. Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C, Mérida, México. 90 p.
- Harvey, P. H. y M. D. Pagel (1991). *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford series in Ecology and Evolution, Oxford University, 239 p.
- Martinelli, G. (1994). *Reproductive Biology of Bromeliaceae in the Atlantic Rainforest of Southeastern Brazil*. Tesis de Doctorado, School of Biological and Medical Sciences University of St. Andrews, St. Andrews, U.S.A. 197 p.
- Matallana, T. (2010). *Sistemas Reproductivos, Ecologia da Polinização e Hibridização em Bromeliaceae numa perspectiva local à evolutiva*. Tesis de Doctorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 197 p.
- Medina, E. (1974). Dark CO₂ fixation, habitat preference and evolution within the Bromeliaceae. *Evolution*, 28: 677–686.
- Quezada, I. y E. Gianoli (2011). Crassulacean acid metabolism photosynthesis in Bromeliaceae: an evolutionary key innovation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 104: 480–486.

- Salamin, N. y J. Davies (2004). Using supertrees to investigate species richness in grasses and flowering plants. En O. P. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 461–486. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Schulte, K., R. Horres y G. Zizka (2005). Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). *Senckenbergiana Biology*, 85: 113–125.
- Smith, L. y W. Till (1998). Bromeliaceae. En K. Kubitzki (ed.) *The Families and Genera of Vascular Plants IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*, pp. 74–99. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Stoner, C., O. P. Bininda-Emonds y T. Caro (2003). The adaptive significance of coloration in lagomorphs. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79: 309–328.
- Xiang, Q. y D. T. Thomas (2008). Tracking character evolution and biogeography history through time in Cornaceae—Does choice of methods matter? *Journal of Systematics and Evolution*, 46: 349–374.

Integrating phylogenetic information for the family Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae)¹

ABSTRACT

The Bromeliaceae family is a monophyletic group native to the New World, that has radiated extensively into physically extreme environments ranging from terrestrial to epiphytic, deep shade to full sun, mesic to extremely xeric, and sea level to alpine. We review the thirty-three phylogenetic studies currently published, to explore the advances in knowledge about relationships within the family. We gained insight about the groups of the family that need urgent revision, and the groups that should be revised due to inconsistencies among the sets of evidence. These phylogenetic studies can be used as a foundation for designing more focused studies of particular clades to improve our knowledge of phylogenetic relationships within Bromeliaceae. We found only a fraction of the total diversity of Bromeliaceae represented in phylogenetic studies (726 out of ca. 3346 spp.) Subfamilies Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae, and Navioideae have been poorly studied, 10 genera are monophyletic, eight monotypic, whereas the other genera of Bromeliaceae were recorded as non-monophyletic. The great challenge of systematic research now is the circumscription and understanding of generic relationships.

INTRODUCTION

The family Bromeliaceae (ca. 3346 species and 58 genera, according to Luther, 2012) constitutes one of the most morphologically distinctive, ecologically diverse, and species-rich clades of flowering plants native to the Neotropics. It extends from the state of Virginia in North America to Argentina in South America. The occurrence of a single disjunct species in western tropical Africa, *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr., is attributed to long distance dispersal (Givnish *et al.*, 2004).

The bromeliads have been successful colonizers of epiphytic and terrestrial habitats. Unique trichomes capable of water absorption, and the development of various strategies to deal with water stress (succulence, foliar impoundment, CAM photosynthesis), confer an extraordinary ecological versatility on the family (Givnish *et al.*, 2011; Horres *et al.*, 2007). Bromeliads

¹ Escobedo-Sarti G.J., D. Mondragón, I. Ramírez y S. Magallón. Integrating phylogenetic information for the family Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae). Será enviado a la revista Botanical Sciences.

occur in environments at sea level to up to 4200 m, in hyper-humid tropical rain or cloud forests to the driest deserts (Smith and Till, 1998; Smith and Downs, 1979, 1977, 1974).

Bromeliads are perennial, rosette herbs with a short axis or rarely an elongated stem. The roots are absorbing in terrestrial species but in epiphytes, their vascular system is reduced and water uptake is accomplished by absorptive trichomes. The leaves are spirally arranged, undivided and entire to spinose; they are usually lepidote due to the presence of peltate trichomes and frequently forming a water-collecting funnel, a so-called tank. Inflorescences are terminal or rarely lateral, sessile or pedunculate, racemose to panicle and often bear conspicuously colored bracts. The flowers are generally actinomorphic and perfect, rarely somewhat zygomorphic (i.e., *Pitcairnia* L'Hér) and likewise rarely functionally unisexual (i.e., *Hechtia* Klotzsch). The perianth consists of 3 sepals and 3 petals, each free or connate to each other at the base. The petals frequently are bright colored and sometimes have basal appendages. The stamens are 3 + 3 in number with the filaments free or adnate to the petals or among them, each free or connate to each other at the base. The anthers are basifixed, introrse and longitudinal dehiscing. The ovary is trilocular, superior or inferior and the style slender or lacking, with a 3-lobed stigma. The axile placentae bear anatropous ovules, which sometimes have chalazal appendages. Septal nectaries are present. The fruit is a septicidal and/or loculicidal capsule or a berry, the seeds are rather small; they are winged, plumose or naked, containing a cylindrical embryo at the base of a starchy endosperm (APG II, 2003; Smith and Till, 1998; Smith and Downs, 1979, 1977, 1974).

Chromosome counts for Bromeliaceae species have been carried out by several authors, revealing $X=25$ as the basic number for the family (Benzing, 2000). Polyploidy is relatively uncommon but has occasionally been reported. Crassulacean acid metabolism (CAM) is very common within the family: Martin (1994) estimated two-thirds of all bromeliads to be CAM plants, the C_3 photosynthetic pathway is inferred to be the ancestral state within the genus, and CAM photosynthesis arose at least four times within Bromeliaceae (Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Martin, 1994).

According to recent molecular studies, Bromeliaceae belong to the order Poales within the commelinid clade of the monocots. Within the Poales, Bromeliaceae are sister to Typhaceae, which in turn are sister to the rest of the order (Chase *et al.*, 2006; Givnish *et al.*, 2006; Graham *et al.*, 2006). Monophyly of the family has been commonly accepted on the basis of morphological and anatomical characters (Gilmartin and Brown, 1987) and was confirmed by all molecular studies (Givnish *et al.*, 2007, 2004; Crayn *et al.*, 2004; Clark *et al.*, 1993; Duvall *et al.*, 1993).

Traditionally, Bromeliaceae has been divided into three subfamilies (Pitcairnioideae, Tillandsioideae, and Bromelioideae; Figure II.1) that were distinguished by morphological characters of the flowers, fruits, and seeds (Smith and Till, 1998; Smith and Downs, 1979, 1977, 1974; Mez, 1896). However, this view has been challenged by molecular studies. Quite a few morphological characters have been studied in terms of systematic relevance within the family Bromeliaceae. Among these are: pollen (Halbritter, 1992), stigmas (Brown and Gilmartin, 1989, 1984), foliar scales (Varadarajan and Gilmartin, 1987), seeds (Varadarajan and Gilmartin, 1988b), petal appendages (Brown and Terry, 1992), physiological characters (Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Martin, 1994), chromosomal features (Gitaí *et al.*, 2005; Ramírez and Brown, 2001; Marchant, 1967) and biogeographical data (Smith, 1934).

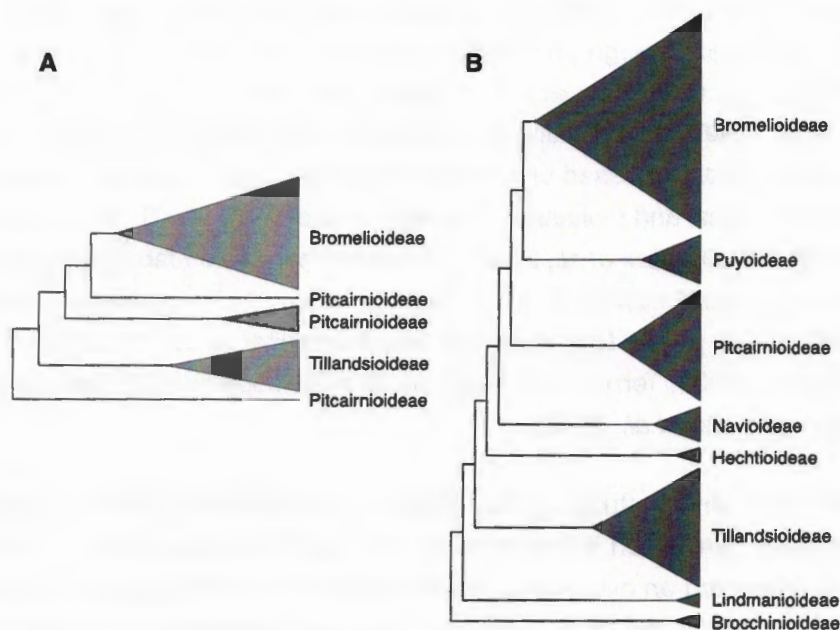


Figure II.1. Phylogenetic scheme of the Bromeliaceae family. A, traditional classification (according to Terry *et al.*, 1997a). B, most recent propose (according to Givnish *et al.*, 2011). See text for details.

Harms (1930) established the monotypic subfamily Navioideae, but this proposal did not receive high approval and was not adopted by Smith and Downs (1979, 1977, 1974). Varadarajan and Gilmartin (1988c) detected three supposedly monophyletic groups within the subfamily Pitcairnioideae by a cladistic study, based on foliar anatomy, foliar scale structure, and gross morphology of the shoot and the inflorescence. Accordingly, they proposed tribal

rank to the three groups: Brocchinieae, Pitcairnieae and Puyeeae (Varadarajan and Gilmartin, 1988a,c).

Recent molecular studies based on chloroplast DNA sequences revealed that the traditional subfamilies Tillandsioideae and Bromelioideae are monophyletic, whereas Pitcairnioideae are clearly paraphyletic (Figure II.1; Terry *et al.*, 1997a; Ranker *et al.*, 1990). Based on a *ndhF* phylogeny, Givnish *et al.* (2007) proposed eight bromeliad subfamilies (Tillandsioideae, Bromelioideae, Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Puyoideae, Navioideae, and Pitcairnioideae *s.str.*) that are mainly characterized by the morphology of the flowers, fruit, seeds, and molecular data (Givnish *et al.*, 2011, 2007).

The current taxonomy of Bromeliaceae is strongly in flux, the relationships within subfamilies started to be addressed through an increasing sampling of genera and species within individual subfamilies (i.e. Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004; Barfuss *et al.*, 2005; Schulte *et al.*, 2005; Terry *et al.*, 1997a,b), resulting in numerous changes and additions at the generic level. More recent studies focused on intrageneric phylogenetic analysis through the use of combined morphological and molecular datasets (Sousa *et al.*, 2007), AFLPs (Schulte *et al.*, 2010; Horres *et al.*, 2007; Rex *et al.*, 2007) or nuclear characters (Jabaily and Sytsma, 2010; Sass and Specht, 2010; Chew *et al.*, 2010; Schulte *et al.*, 2009); in general, molecular studies in Bromeliaceae on plastid DNA data only, which exhibited a low variability (Schulte *et al.*, 2005; Horres *et al.*, 2000; Terry *et al.*, 1997a,b), the low-copy nuclear gene PRK exhibits a higher variation (Schulte *et al.*, 2009).

Since the first phylogenetic study by Varadarajan and Gilmartin (1988a), many have been published, however, how much is known about phylogenetic relationships in Bromeliaceae? In this work is presented an overview of current knowledge of phylogenetic relationships in the family, based on both, morphological and molecular studies summarizing these studies and identifying groups that have been poorly sampled, in order to guide further research.

MATERIALS AND METHODS

Data

A search was conducted through Google Scholar in order to have a comprehensive survey of the literature for Bromeliaceae phylogenetic hypotheses. The initial search criteria were the terms "phylogeny" and "Bromeliaceae". After obtaining the list of studies that included derivate of both of those terms, it was investigated appropriateness of each of the individual

studies using their abstracts. For each individual study, was also surveyed studies that cited it and all studies cited in within them. This methodology was continued with that procedure using the combination of each of "phylogeny", "clade", "taxonomy", and "cladistic" with the terms "Bromeliaceae", bromeliads, and each name of the subfamilies and genus of the family.

RESULTS

Found 33 available phylogenetic studies for Bromeliaceae (Table II.1), were counted that 726 species out of 3346 (Luther, 2012), are sampled (21.65% of the total; Table 2). At the genus level, *Brocchinia* Schult. f., *Alcantarea* Harms, *Fosterella* L. B. Sm., *Ananas* Mill., and *Lymania* Read are among the best represented in phylogenetic studies, while missing genera from phylogenetic analysis are *Pseudaechmea* L.B. Sm & Read and *Disteganthus* Lem., both genera of subfamily Bromelioideae (Table II.2).

DISCUSSION

Monophyly of Bromeliaceae has been commonly accepted on the basis of morphological, anatomical and molecular characters (Givnish *et al.*, 2007, 2004; Crayn *et al.*, 2004; Clark *et al.*, 1993; Duvall *et al.*, 1993; Gilmartin and Brown, 1987).

The intra-family relationships are discussed, by subfamily, in light of the 33 phylogenetic studies published for the family, pointing out the agreement and disagreement among phylogenetic proposals for the family and also, were identified those groups that have been poorly sampled. Next, the intra-family relationships will be discussed from the basal clades to derivate ones.

Brocchinioideae

This subfamily constitutes a monophyletic group (Givnish *et al.*, 2011, 2007). About 75% of this subfamily has been sampled (Table II.2). The Brocchinioideae, includes only one genus in its current circumscription: *Brocchinia*. This genus lie at the base of the family, based on a cladistic analysis (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 1997; Crayn *et al.*, 2004; Terry *et al.*, 1997a). *Brocchinia* is endemic to the Guiana Shield, many species occurs only in one or a few tepuis, with a cool, extremely wet climate and exceedingly nutrient-poor soils analysis (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 1997; Smith and Downs, 1974).

Table II.1. Published studies on the phylogeny of Bromeliaceae.

No.	Authors	Study group	Evidence
1	Varadarajan and Gilmartin (1988a)	Subfamily Pitcairnioideae	Morphological
2	Gilmartin <i>et al.</i> (1989)	<i>Glomeropitcairnia</i>	Morphological
3	Ranker <i>et al.</i> (1990)	Bromeliaceae	Restriction sites (cp)
4	Beaman and Judd (1996)	<i>Tillandsia</i> subgenus <i>Pseudalcantarea</i>	Morphological
5	Ramírez (1996)	<i>Cryptanthus</i>	Morphological
6	Terry <i>et al.</i> (1997a)	Bromeliaceae	<i>ndhF</i>
7	Terry <i>et al.</i> (1997b)	Subfamily Tillandsioideae	<i>ndhF</i>
8	Givnish <i>et al.</i> (1997)	<i>Brocchinia</i>	Restriction sites (cp)
9	Horres <i>et al.</i> (2000)	Bromeliaceae	<i>trnL</i> (UAA)
10	Forzza (2001)	<i>Encholirium</i>	Morphological
11	Crayn <i>et al.</i> (2004)	Bromeliaceae	<i>matK</i> , <i>rps16</i>
12	Faria <i>et al.</i> (2004)	<i>Aechmea</i> and allied genera	Morphological
13	Schulte <i>et al.</i> (2005)	Subfamily Bromelioideae	<i>matK</i> , <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i>
14	Barfuss <i>et al.</i> (2005)	Subfamily Tillandsioideae	<i>trnK</i> , <i>rps16</i> , <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i> , <i>atpB-rbcL</i> , <i>rbcL</i> , <i>matK</i>
15	Horres <i>et al.</i> (2007)	Subfamily Bromelioideae	<i>trnL</i> , <i>trnT-trnL</i> , <i>trnL-trnF</i>
16	Givnish <i>et al.</i> (2007)	Bromeliaceae	<i>ndhF</i>
17	Sousa <i>et al.</i> (2007)	<i>Lymania</i>	<i>matK</i> , <i>psbA-trnH</i> , <i>trnL-trnF</i> and morphological
18	Rex <i>et al.</i> (2007)	<i>Fosterella</i>	AFLP
19	Schulte and Zizka (2008)	Subfamily Bromelioideae	<i>atpB-rbcL</i> , <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i> , <i>matK</i> , <i>trnK</i>
20	Hornung-Leoni and Sosa (2008)	<i>Puya</i> subgenus <i>Puya</i>	Morphological
21	Granados (2008)	<i>Tillandsia macgougalli</i> complex	<i>matK-trnK</i> , <i>trnH^{GUG}-psbA</i> , <i>trnD^{GUC}-trnT^{GGU}</i> and morphological
22	Schulte <i>et al.</i> (2009)	Subfamily Bromelioideae	<i>PRK</i> , <i>matK</i> , <i>trnK</i> , <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i> , <i>atpB-rbcL</i>
23	Almeida <i>et al.</i> (2009)	<i>Quesnelia</i>	Morphological
24	Rex <i>et al.</i> (2009)	<i>Fosterella</i>	<i>matK</i> , <i>rps16</i> , <i>atpB-rbcL</i> , <i>psbB-psbH</i>
25	Matallana (2010)	Bromeliaceae	<i>matK</i> , <i>trnL-trnF</i>
26	Sass and Specht (2010)	<i>Aechmea</i>	<i>rpb2</i> , ETS, <i>g3pdh</i> , <i>trnL-F</i>

....continued on next page

Table II.1: (Continued)

No.	Authors	Study group	Evidence
27	Jabaily and Sytsma (2010)	<i>Puya</i>	<i>matK</i> , <i>trnS-trnG</i> , <i>rps16</i> , <i>PHYC</i>
28	Gonsiska (2010)	<i>Catopsis</i>	<i>rps16</i> , <i>rpl16</i> , <i>matK</i> , <i>trnL-trnF</i> , <i>atpB-rbcL</i> , <i>atpF-atpH</i> , <i>rps16-trnK</i> , <i>PRK</i>
29	Chew <i>et al.</i> (2010)	Pseudobulbous <i>Tillandsia</i> species	ITS2+5.8S, ETS
30	Givnish <i>et al.</i> (2011)	Bromeliaceae	<i>atpB-rbcL</i> , <i>matK</i> , <i>ndhF</i> , <i>psbA-trnH</i> , <i>rpl32-trnL</i> , <i>rps16</i> , <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i>
31	Pinzón <i>et al.</i> (2011)	<i>Tillandsia utriculata</i> complex	Morphological
32	Gomes da Silva <i>et al.</i> (2012)	<i>Vriesea corcovadensis</i> group	Morphological
33	Versieux <i>et al.</i> (2012)	<i>Alcantarea</i>	Microsatellites

end table.



← **Figure II.2. (previous page).** Representative species of Bromeliaceae subfamilies. **Brocchinioideae**, the most basal group of bromeliads, is restricted to the Guiana Highlands. A-B, *Brocchinia tatei* L.B. Sm. **Lindmanioideae**, is one of the less known group of Bromeliaceae, it is endemic of the Guiana Shield. C, *Lindmania holstii* Steyerf. & L.B. Sm. **Tillandsioideae**, one of the more species and morphological diverse group; as well as, one of the most intensively studied group of Bromeliaceae, the greatest diversity of this group is centered in Mexico, Central America, and the Andes Range (South America). D, *Tillandsia brachycaulos* Schltdl.; E, *T. liliacea* Mart. ex Schult. f.; F, *Vriesea malzinei* E. Morren; G, *Catopsis morreniana* Mez (male flower). **Hechtioideae**, a group endemic of Mexico and north of Central America; it has dioecy as its main reproductive system. H-I, *Hechtia rosea* E. Morren ex Baker. **Navioideae**, another poorly known group of Bromeliaceae, the plant depicted here (*Navia igneosicola*, J), represent one of the mysteries in this group because it is apparently more related with *Pitcairnia* than with *Navia*. **Pitcairnioideae**, is one of the more widespread groups of Bromeliaceae, across America with one species in Africa. *Pitcairnia roseana* L. B. Sm. **Puyoideae**, in this group are some of the largest plants of Bromeliaceae, and is mainly distributed at the Andean Range. M-N, *Puya vasquezii* Ibach & E. Gross. **Bromelioideae**, may be it is, at the same time, the more studied and less understood group of Bromeliaceae, one of its main representative species, *Ananas comosus* (L.) Merr. (O) is one of the more appreciated tropical fruits. Bromelioideae a very diverse group in the South America, with several paraphyletic genera sensu molecular data. P, *Billbergia macrolepis* L. B. Sm.; Q, *B. viridiflora* H. Wendl.; R, *Hohenbergia stellata* Schult. f.; S, *Cryptanthus beuckeri* E. Morren. Photo credits: A-C, J, M-N from Eric Gouda; D-I, K, O-S from Carlos Leopardi.

This group has undergone an adaptive radiation in mechanisms of nutrient capture, including carnivory, ant-fed myrmecophytes, species with N₂-fixing symbionts, tank epiphytes, and non-impounding terrestrial forms (Figure II.2; Reinert *et al.*, 2003; Givnish *et al.*, 1997; Varadarajan, 1986). Givnish *et al.* (1997) who used amplified fragment length polymorphism in their phylogenetic analysis of the genus, found four complexes (*Prismatica*, *Melanacra*, *Micrantha* and *Reducta*).

Lindmanioideae

This subfamily constitutes a monophyletic group (Givnish *et al.*, 2011, 2007). Proposed by Givnish *et al.* (2007), it includes two genera: *Connellia* N.E. Br. (ca. six species; Luther, 2012) and *Lindmania* Mez (ca. 39 species; Luther, 2012). In the study of Givnish *et al.* (2011), *Lindmania* represented by three species, was retrieved as paraphyletic. This subfamily is poorly represented in phylogenetic studies (it was found in only three out of 33 published phylogenetic studies; Table II.2). *Connellia* is represented in the phylogenetic analysis of Varadarajan and Gilmartin (1988a) and Givnish *et al.* (2011), but most of the relationships among its taxa remain unknown.

The scarcity of information about Lindmanioideae may be due to their restricted distribution to the upland and highland regions of the Guiana Shield of Venezuela, Guiana, and Brazil.

It is noteworthy that the distributions of *Lindmania* and *Connellia* overlap. *Connellia* differs from *Lindmania* only by its large, enveloping primary bracts, and further study may support the combination of these two genera (Figure II.2). However, with the few collections per species currently available, it is difficult to understand generic or species limits. Additionally, the descriptions of many species were based on immature plants, on plants with old infructescences, or on fragmentary collections, making it problematic to match new collections to the types (Holst, 1997). *Connellia* occur in the eastern Guiana Highlands from Ptari-tepui in Venezuela to Roraima (Holst, 1997).

Tillandsioideae

This subfamily is a monophyletic group, as suggested by Terry *et al.* (1997a,b), Horres *et al.* (2000), Crayn *et al.* (2004), Barfuss *et al.* (2005) and the current classification system of Givnish *et al.* (2011, 2007). This subfamily is, the largest of Bromeliaceae with ca. 1337 species (Luther, 2012); and has been studied by Beaman and Judd (1996); Terry *et al.* (1997a); Barfuss *et al.* (2005); Granados (2008); Chew *et al.* (2010); Gonsiska (2010); Pinzón *et al.* (2011); Gomes da Silva *et al.* (2012); Versieux *et al.* (2012). These works examined 18.92% of species in the subfamily and the relationships of 253 species (Table II.2).

Generic limits and relationships within Tillandsioideae are currently undergoing change, circumscriptions for most of genera are not clear, because morphological character used for separation are of questionable diagnostic utility (i.e. spiral vs. distichous arrangement of the flowers, various levels of connation in the corolla tube, inclusion vs. exsertion of stamens and styles, and especially, presence vs. absence of petal appendages), the most comprehensive molecular analysis of Tillandsioideae, made by Barfuss *et al.* (2005) suggest that this subfamily could be divided into four monophyletic tribes: Catopsideae, Glomeropitcairnieae, Vrieseae, and Tillandsieae.

Table II.2. Percentage of subfamilies and genera sampled in phylogenetic studies for Bromeliaceae. ^aAccording to Givnish *et al.* (2011), ^bAccording to Luther (2012)

Subfamily ^a /Genus ^b	No. of species ^b	No. of taxa sampled	Percentage sampled
Brocchinioideae	20	15	75.00
<i>Brocchinia</i>	20	15	75.00
Bromelioideae	934	283	30.29
<i>Aechmea</i>	276	134	48.55
<i>Acanthostachys</i>	2	2	100.00
<i>Ananas</i>	7	5	71.42
<i>Androlepis</i>	2	1	50.00
<i>Araeococcus</i>	9	5	55.55

....continued on next page

Table II.2: (Continued)

Subfamily ^a /Genus ^b	No. of species ^b	No. of taxa sampled	Percentage sampled
<i>Billbergia</i>	63	23	36.50
<i>Bromelia</i>	60	10	16.66
<i>Canistropsis</i>	11	1	9.09
<i>Canistrum</i>	13	3	23.07
<i>Cryptanthus</i>	72	7	9.72
<i>Deinacantho</i>	1	1	100.00
<i>Disteganthus</i>	2	0	0.00
<i>Edmundoa</i>	3	2	66.66
<i>Eduandrea</i>	1	1	100.00
<i>Fascicularia</i>	1	1	100.00
<i>Fernseea</i>	2	1	50.00
<i>Greigia</i>	36	3	8.33
<i>Hohenbergia</i>	65	15	23.07
<i>Hohenbergiopsis</i>	1	1	100.00
<i>Lymania</i>	9	7	77.77
<i>Neoglazovia</i>	3	1	33.33
<i>Neoregelia</i>	120	8	6.66
<i>Nidularium</i>	47	3	6.38
<i>Ochagavia</i>	4	4	100.00
<i>Orthophytum</i>	68	5	7.35
<i>Portea</i>	9	9	100.00
<i>Pseudachmea</i>	1	0	0.00
<i>Pseudananas</i>	1	1	100.00
<i>Quesnelia</i>	23	18	78.26
<i>Ronnbergia</i>	14	7	50.00
<i>Ursulaea</i>	2	2	100.00
<i>Wittrockia</i>	6	2	33.33
Hechtioideae	62	11	17.74
<i>Hechtia</i>	62	11	17.74
Lindmanioideae	45	4	8.88
<i>Connellia</i>	6	1	16.66
<i>Lindmania</i>	39	3	7.69
Navioideae	107	9	8.41
<i>Brewcaria</i>	6	2	33.33
<i>Cottendorfia</i>	1	1	100.00
<i>Navia</i>	93	4	4.30
<i>Sequencia</i>	1	1	100.00
<i>Steyerbromelia</i>	6	1	16.66
Pitcairnioideae	623	100	16.05
<i>Deuterocohnia</i>	18	7	38.88

....continued on next page

Table II.2: (Continued)

Subfamily ^a /Genus ^b	No. of species ^b	No. of taxa sampled	Percentage sampled
<i>Dyckia</i>	147	14	9.52
<i>Encholirium</i>	28	21	75
<i>Fosterella</i>	31	27	87.09
<i>Pepinia</i>	57	3	5.26
<i>Pitcairnia</i>	342	28	8.18
Puyoideae	218	51	23.39
<i>Puya</i>	218	51	23.39
Tillandsioideae	1,337	253	18.92
<i>Alcantarea</i>	32	22	68.75
<i>Catopsis</i>	18	10	55.55
<i>Glomeropitcairnia</i>	2	2	100.00
<i>Guzmania</i>	211	21	9.95
<i>Mezobromelia</i>	9	2	22.22
<i>Racinaea</i>	74	9	12.16
<i>Tillandsia</i>	622	132	21.22
<i>Vriesea</i>	281	50	17.79
<i>Werauhia</i>	88	5	5.68
Total	3346	726	21.65

end table.

The basal clades of subfamily Tillandsioideae consists of two tribes: Glomeropitcairnieae (*Glomeropitcairnia*), and Catopsidae (*Catopsis*). These conform the sister clade of the remaining Tillandsioideae, as suggest the findings of Terry *et al.* (1997a,b), Crayn *et al.* (2004), Barfuss *et al.* (2005), Schulte and Zizka (2008), Givnish *et al.* (2011, 2007), and Gonsiska (2010). *Glomeropitcairnia* and *Catopsis* appear to have diverged early in the evolution of the Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005) and have developed divergent autoapomorphies. *Glomeropitcairnia* differ from typical tillandsioids in having a semi-inferior ovary, while *Catopsis* bore dioecious plants (Figure II.2; Gilmartin *et al.*, 1989).

All phylogenetic studies to date included only one to four species of *Catopsis*, and in all cases it is monophyletic (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Barfuss *et al.*, 2005; Terry *et al.*, 1997b). This finding is consistent with the phylogenetic analysis of Gonsiska (2010), who sequenced seven chloroplast regions and one nuclear region for 10 of ca. 18 species. Additionally, Palací (1997) tried to resolve circumscriptions at the species level for *Catopsis* using a phenetic approach and proposed several taxonomic changes. The studies of Palací (1997) and Gonsiska (2010) allow us to understand some of the evolutionary relationships within this

genus and resolved some taxonomic problems, but currently this genus represents a challenge because numerous taxonomic problems within it remain unresolved. Among these complications have been the use of overlapping ranges of continuously distributed characters to distinguish species. Additionally, the hermaphroditic populations and functionally dioecious plants of several *Catopsis* species have been considered taxonomically distinct in the past (Gonsiska, 2010; Palací, 1997).

The third tribe proposed by Barfuss *et al.* (2005) is *Vrieseeae*; the members of this tribe are *Alcantarea*, *Vriesea*, and *Werauhia* J. R. Grant, they share some morphological characters as, mostly distichous flower arrangements, a pair of petal appendages, and petals mostly yellow (Barfuss *et al.*, 2005). *Alcantarea* comprises near 32 species (Luther, 2012), strictly rupicolous and occurring on gneiss-granitic inselbergs from eastern Brazil or more rarely, on quartzite rocky outcrops in grasslands with rocky soils vegetation of Espinhaço Mountain range (Versieux *et al.*, 2012). Versieux *et al.* (2012) showed that *Alcantarea* is monophyletic and sister to a clade that comprises Brazilian species of *Vriesea*, this corroborated previous molecular studies by Barfuss *et al.* (2005). Some morphological characters that distinguish *Alcantarea* from *Vriesea* (its closest relative), are the seed with apical and basal appendages, linear-long, ephemeral, distinctly flaccidescient and spiralescent petals, semi-inferior ovary, large habit, bulky inflorescences, and convolute blade stigma type (Versieux *et al.*, 2012; Gilmartin *et al.*, 1989; Brown and Gilmartin, 1984; Smith and Downs, 1977), while *Vriesea*, are long-lived, short, elliptic, oblong or obovate petals, usually firm and remaining more or less erect or recurved but not spiraling after anthesis, seeds with apical appendages atrophied, superior ovary and occurring in south of Brazil, Andean foothills, Central America up to the Central Mexico (Versieux *et al.*, 2012; Smith and Downs, 1977).

Vriesea is the third largest genus in the family, with ca. 281 species (according to Luther, 2012), several studies have consistently indicated that *Vriesea* is polyphyletic (i.e. Gomes da Silva *et al.*, 2012; Givnish *et al.*, 2011; Barfuss *et al.*, 2005; Terry *et al.*, 1997b). The problem of delimitation of the genus *Vriesea* is due to its morphological diversity, the number of shared characteristics, and the lack of unique features, all of which lead to an extremely confusing taxonomy. These difficulties are compounded by the small number of species included in phylogenetic studies (50 out of 281 spp.; Table II.2; Luther, 2012), and the almost complete lack of taxonomic review studies involving this genus. In the sole study of *Vriesea* (*Vriesea corcovadensis* Mez complex; Gomes da Silva *et al.*, 2012), using morphological analysis, results suggest that the group is not natural, despite its distinctive characters (i.e., polystichous flowers, presence of a stolon, utriculiform rosettes, and a linear-triangular leaf blade with a maximum width of 1.5 cm). Again, morphological characters traditionally applied to circumscribe *Vriesea* failed.

Werauhia (a segregate of *Vriesea* sect. *Xiphion*) members present flowers usually with nocturnal anthesis, often secund, usually zygomorphic, sessile to pedicellate, petals free with two basal appendages, and stigma cupulate; its members grow in Central American, Greater Antilles, and northern South America. For *Werauhia* there is no a single phylogenetic study; however, according to Crayn *et al.* (2004) and Barfuss *et al.* (2005), is a monophyletic genus based on five species.

The fourth tribe proposed by Barfuss *et al.* (2005) is Tillandsieae with *Guzmania* Ruiz & Pav., *Viridantha* Espejo, *Mezobromelia* L. B. Sm., *Racinaea*, and *Tillandsia*, as the members of this tribe. They shared some morphological characters like, petal appendages usually lacking, ovary partly inferior, and septicidal capsule (Barfuss *et al.*, 2005). The evidence suggests that *Guzmania* is a monophyletic genus (Barfuss *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004), and might be the closest relative to *Mezobromelia*; both genera have a mostly polystichous flower arrangement, petals are nearly exclusively white or yellow, rarely green, the former genus also bearing two petal appendages (Givnish *et al.*, 2011; Barfuss *et al.*, 2005). *Mezobromelia* according to Givnish *et al.* (2011) is not monophyletic. Regarding the relationships inside of *Guzmania* and *Mezobromelia*, we did not find information because there are no published phylogenetic studies.

The largest genus of the family is *Tillandsia* (subfamily Tillandsioideae), with 622 species (Luther, 2012), and represented in ca. 21.22% (132 spp.; Table II.2). This genus has been retrieved as paraphyletic /polyphyletic (Barfuss *et al.*, 2005). *Tillandsia* has had a somewhat unstable taxonomic history; the species associations within genera and subgenera have varied according to taxonomists' emphases on certain characters (Figure II.2). The classification within the genus has also been controversial, mainly the subdivision into seven subgenera (Smith and Downs, 1977); several authors have recognized the need of a critical revision of these subgenera (Barfuss *et al.*, 2005; Espejo-Serna, 2002; Beaman and Judd, 1996; Gardner, 1982).

Systematic works have already evaluated five subgenera: *Allardtia* (A. Dietr.) Baker, *Tillandsia* (Espejo-Serna, 2002; Gilmartin and Brown, 1986; Gardner, 1982), *Diaphoranthema* (Beer) Baker (Till, 1992), and *Pseudalcantarea* Mez (Beaman and Judd, 1996), based on floral characters; i.e., filament shape in cross-section, width at the base and apex, relative length between filaments and insertion and throughout the anther, corolla and calyx, symmetry, corolla shape, the shape of the petals and sepals, the presence of carina and fusion of the sepals.

The most comprehensive molecular analysis of *Tillandsia* was based on sequence variation of seven plastid regions, five non-coding (partial 59 and 39 *trnK* intron, *rps16* intron, *trnL*

intron, *trnL-trnF* intergenic spacer, *atpB-rbcL* intergenic spacer) and two coding regions (*rbcL* and *matK*) for 60 species by Barfuss *et al.* (2005); their results displayed weak resolution in their cladograms, because all taxa of *Tillandsia* seems to be phylogenetically young (as detected by the low genetic divergence), no taxonomic suggestions were made below the tribal level. Currently the taxonomy of the genus is far from have been studied satisfactorily, persisting key problems such as the division of *Tillandsia* and its relationship to other genera (Barfuss *et al.*, 2005).

Viridantha according to Barfuss *et al.* (2005) is monophyletic, yet we know little about the relationships within *Viridantha* as there is no published phylogenetic study. The only study on this genus was performed by Espejo-Serna (2003), who carried out a phenetic analysis based on the comparative study of floral traits. *Viridantha*, is characterized by the stamens equal in length, flat filaments and subbasifixed anthers, 2–4 mm long, ligulate, free, dark green petals, distichous, protandrous flowers, long asymmetric, densely to very densely disposed scales, and simple-erect stigmas (Espejo-Serna, 2003).

Racinaea had been retrieved as non monophyletic (Givnish *et al.*, 2011; Barfuss *et al.*, 2005); the position of this genus based on different phylogenetic analysis, suggest it as member of *Tillandsia*, this is not surprising because *Racinaea* was segregated from *Tillandsia* subgenus *Pseudocatopsis* by Smith and Spencer (1993). The set of characters that readily distinguish *Racinaea* from other tillandsioid genera are distichous, small and inconspicuous flowers, asymmetric sepals which are broadest towards the apex free or nearly so; stamens and pistil included in the corolla and a short and stout style (Smith and Spencer, 1993).

Hechtioideae

This subfamily had been retrieved as monophyletic and as sister group of Tillandsioideae (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Rex *et al.*, 2009; Reinert *et al.*, 2003; Forzza, 2001). This subfamily as defined by Givnish *et al.* (2011, 2007) has one genus, *Hechtia* (ca. 62 spp. according Luther, 2012), which had been poorly represented in the phylogenetic studies of the family (ca. 17.74% in 33 phylogenetic hypotheses; Table II.2; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Jabaily and Sytsma, 2010; Matallana, 2010; Rex *et al.*, 2009; Horres *et al.*, 2007, 2000; Barfuss *et al.*, 2005; Schulte *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004; Forzza, 2001; Ranker *et al.*, 1990; Varadarajan and Gilmartin, 1988a). To date there is no specific phylogenetic study of this subfamily. The most comprehensive studies of *Hechtia* were conducted by Smith and Downs (1979, 1977, 1974). Martínez (2008) examined the taxonomic and nomenclatural positions of the *Hechtia podantha* Mez complex. No published phylogenetic analysis have broached internal relationships within the genus and our knowledge of the relationships and evolution of this genus is lacking.

Hechtia is overwhelmingly Mexican. It is characterized by dioecious members with restricted geographical ranges (i.e., each species is known from one or a few populations) and associated with rocky soils of calcareous gypsophilous or volcanic origin. Understanding species limits in *Hechtia* has been difficult because most specimens are female and more commonly known in a fruiting rather than flowering state, probably because flowering is brief-occurring over a period of less than two weeks (Ramírez *et al.*, 2011).

Efforts are underway to clarify species numbers and limits and to produce a monograph covering this genus. Preliminary studies suggest that a suite of informative characters, including vegetative and floral features, can delimit taxa within *Hechtia*. Characters include monocarpic (with terminal inflorescence) versus polycarpic (with lateral inflorescences) rosettes, sessile versus pedicellate flowers, caespitose versus rhizomatous growth, glabrous versus tomentose surfaces, and spinose versus serrulate leaves, among other morphological features (Figure II.2; Ramírez *et al.*, 2011).

Navioideae

This is the least sampled subfamily with about 8.41% represented in phylogenetic studies (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 1997; Hornung-Leoni and Sosa, 2008; Crayn *et al.*, 2004; Terry *et al.*, 1997a,b; Varadarajan and Gilmartin, 1988a). Of 107 species included in this subfamily (Luther, 2012), phylogenetic relationships are known only for nine (Table II.2). The Navioideae include the genera *Brewcaria* L. B. Sm., Steyerl. & H. Rob., *Cottendorfia* Schult. f., *Sequencia* Givnish, *Steyerbromelia* L. B. Sm., and *Navia*; these are restricted almost entirely to the remote and relatively inaccessible part of South America known as the Guiana Highlands.

The placement of the Navioideae in the Bromeliaceae has been controversial, but the understanding of this clade has been improved by recent studies. The clade was proposed as monophyletic sensu Givnish *et al.* (2011, 2007), but this was inconsistent with the phylogenetic hypotheses of Reinert *et al.* (2003) and Crayn *et al.* (2004), in their analysis *Navia igneosicola* L. B. Sm., Steyerl. & H. Rob. was placed in a separate branch from the congeneric *Navia phelpsiae* L. B. Sm.

Navia is the largest genus of Bromeliaceae in the Guiana Shield in southeastern Colombia, southern Venezuela, Guyana, Suriname, northern Brazil (Amazonas, Roraima states), with ca. 93 spp. (Luther, 2012; Holst, 1997). *Navia* has been poorly known taxonomically due to the remoteness of their habitats and paucity of collections, many species known from a single gathering, and the limited material does not allow observing the taxon limit or the presence of polymorphism (Holst, 1997). The generic status of *Navia* should be reconsidered to resolve

numerous nomenclatural difficulties; the use of minor differences in sepal and floral bract shape have perhaps led to the over-description of species (Figure II.2; Reinert *et al.*, 2003; Holst, 1997).

Pitcairnioideae

This is the third largest subfamily of Bromeliaceae, with ca. 623 spp. (Luther, 2012), only 100 species have been studied phylogenetically (Table II.2; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Jabaily and Sytsma, 2010; Matallana, 2010; Rex *et al.*, 2009, 2007; Hornung-Leoni and Sosa, 2008; Horres *et al.*, 2007, 2000; Schulte *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004; Forzza, 2001; Terry *et al.*, 1997a; Ranker *et al.*, 1990; Varadarajan and Gilmartin, 1988a). Pitcairnioideae include the genera *Pitcairnia*, *Pepinia* Brongn. ex André, *Fosterella*, *Abromeitiella* Mez, *Dyckia*, *Deuterocohnia* Mez, and *Encholirium* Mart. ex Schult. f. These genera share some characters like capsular fruits, seeds winged, petal blades remaining free after anthesis (or, if slightly coiled, then not clawed), the petals are large and conspicuous or, if minute, then sepals imbricate and anthers basifixed, linear (Givnish *et al.*, 2007).

The genus *Pitcairnia* has traditionally been treated as a monophyletic group (Varadarajan, 1986), including in its synonymy the genus *Pepinia*. *Pepinia* was formerly subgenus of *Pitcairnia* (Smith and Downs, 1974), but it was raised to generic status based on the morphological analysis of Varadarajan and Gilmartin (1988a,b,c), who characterized *Pepinia*, by its seeds with permanent localized wings or naked seed, versus seeds with identical basal and apical tails in *Pitcairnia*. The elevation of *Pepinia* to generic status seems inconsistent for several authors, because the wings or tails of the species may vary with geography and ecology. Robinson and Taylor (1999) based on foliar morphology and foliar anatomical adaptations suggested that the recognition of *Pitcairnia* and *Pepinia* as different genera is artificial, and *Pepinia* should return to *Pitcairnia*.

According to Givnish *et al.* (2011) *Deuterocohnia* is monophyletic, however, some studies suggest that the monophyly of *Deuterocohnia* is not supported, so a review of this genus may be warranted (Jabaily and Sytsma, 2010; Rex *et al.*, 2009; Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Forzza, 2001). *Abromeitiella* might be the sister group of *Deuterocohnia* (Givnish *et al.*, 2007; Forzza, 2001; Varadarajan and Gilmartin, 1988a). Both genera present a distribution concentrated in the region of Chaco (Argentina), some characters shared between them are: axillary scape, flowers developed until the apex of the inflorescence, asymmetric sepals, presence of petaloid appendages, seeds with apical and basal appendages (Forzza, 2001). Some differences between them are: *Abromeitiella* has short or none scape and inflorescence 1–3 flowered, while *Deuterocohnia* has scape well developed and inflorescence many flowered (Spencer and Smith, 1992). Spencer and Smith (1992) placed *Abromeitiella*

as synonymy of *Deuterocohnia*, this change seem accepted (Forzza, 2001); however, a detailed review of these genera seems necessary.

Encholirium and *Dyckia* share some morphological characters like foliar anatomy and similar seed morphology (winged seeds); they have always been grouped together in phylogenetic analysis based on molecular (Terry *et al.*, 1997a) and morphological data (Forzza, 2001; Robinson and Taylor, 1999; Varadarajan and Gilmartin, 1988a); in fact Forzza (2001), suggests that *Dyckia* and *Encholirium* are sister groups.

The genus *Encholirium* was studied by Forzza (2001), from morphological and anatomical characters, she found that *Encholirium* was non-monophyletic group, while *Dyckia* in different studies (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Jabaily and Sytsma, 2010; Rex *et al.*, 2009; Crayn *et al.*, 2004; Forzza, 2001; Beaman and Judd, 1996) has been found as monophyletic based on one or four species (out of a total of ca. 147 species), to review this genus from systematic view will help to understand better the relationships between *Dyckia* and *Encholirium*.

Phylogenetic analysis show the genus *Fosterella* is monophyletic (Rex *et al.*, 2009; Schulte and Zizka, 2008; Crayn *et al.*, 2004), and it is apparently sister to a clade comprising the xeromorphic genera *Dyckia*, *Deuterocohnia*, *Encholirium*, and *Pitcairnia* (Rex *et al.*, 2009; Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004). In an important contribution to the study of *Fosterella*, Peters (2009) reconstructed the evolution of selected morphological characters within this genus by linking his taxonomic revision to the molecular findings of Rex *et al.* (2009). *Fosterella* has been the focus of intensive and systematic research (Peters, 2009; Rex *et al.*, 2009, 2007) and consequently, knowledge of this genus and its distribution is comprehensive.

Puyoideae

With respect to the monogeneric subfamily Puyoideae, it has been represented in phylogenetic analysis by ca. 23% of species, i.e., 51 out of 218 species (Table II.2; Jabaily and Sytsma, 2010; Hornung-Leoni and Sosa, 2008). *Puya* Molina occupies a position in the phylogenetic tree of Bromeliaceae as the putative sister of group to the subfamily Bromelioideae (Figure II.2 Schulte and Zizka, 2008; Givnish *et al.*, 2007; Schulte *et al.*, 2005).

The monophyly of *Puya* is supported by the analysis of Hornung-Leoni and Sosa (2008), who constructed a morphological matrix of 93 discrete and continuous characters. However, support for this monophyly was weak in a combined analysis of sequences for three plastid regions (*matK*, *rps16*, *trnS*, *trnG*) and one single-copy nuclear gene (*PhyC*; Jabaily and Sytsma, 2010). The current hypothesis for the family regards *Puya* as monophyletic although this topology is weakly supported under Parsimony (Givnish *et al.*, 2011; Schulte *et al.*, 2005),

and paraphyletic under Maximum Likelihood and Bayesian inference (Givnish *et al.*, 2011). Given these results, it is worth asking if we should still consider *Puya* to be monophyletic.

Terry *et al.* (1997a) suggest the possibility of placing *Puya* into Bromelioideae, but Givnish *et al.* (2011) disagree, because they consider both Bromelioideae and Puyoideae, as currently defined, to be characterized by obvious morphological synapomorphies, whereas the clade consisting of both subfamilies appears to lack such defining traits (Givnish *et al.*, 2011). However, according to Gilmartin and Brown (1987), some features supporting *Puya*-Bromelioideae relationship include an inferior ovary and similarities in foliar scale anatomy (Smith and Downs, 1974). We consider that further tests of the relationship between *Puya* and Bromelioideae would be useful in identifying taxa that share a most recent common ancestor with Bromelioideae, and should yield a refined hypothesis of phylogenetic tree and character evolution of the base of the *Puya*-Bromelioideae clade.

Bromelioideae

The monophyly of Bromelioideae had been strongly supported by morphological and molecular data (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Schulte *et al.*, 2009; Schulte and Zizka, 2008; Schulte *et al.*, 2005; Horres *et al.*, 2007, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Terry *et al.*, 1997a; Ranker *et al.*, 1990). This subfamily is the second more studied after the Brocchinioideae (Table II.2). The inter- and infra-generic relationships of Bromelioideae are the most poorly understood within the Bromeliaceae (Schulte and Zizka, 2008; Schulte *et al.*, 2005; Benzing, 2000).

The generic delimitation within the subfamily is regarded as especially problematic because morphological characters often prove to be homoplastic and hence, fails to delimit natural groups (Figure II.2). Further, several genera are usually defined by unique combinations of characters, rather than by traditional synapomorphies. A special case is the petal appendage, this character has traditionally been considered important in the classification of the Bromelioideae subfamily, but a study of the diversification of this character (absent, present: scales, lateral folds) found petal appendages to be homoplastic, thus rendering this character inappropriate for generic limitation (Schulte and Zizka, 2008).

Several important efforts have been made to understand the Bromelioideae further (Schulte *et al.*, 2009; Schulte and Zizka, 2008; Horres *et al.*, 2007; De Oliveira *et al.*, 2007; Faria *et al.*, 2004). One alternative to morphological characters is geographic distribution (Schulte and Zizka, 2008). Groups of genera with similar geographic distribution and possibly, origin, might be more closely related than up to now suggested-in spite of considerable morphological differences among taxa (Schulte and Zizka, 2008). Geographic distribution was explored by Sass and Specht (2010), whose results suggest that geographic distribution is often shared

by closely related species. There have been other relevant efforts to better understand of Bromelioideae (Schulte *et al.*, 2009; Schulte and Zizka, 2008; Horres *et al.*, 2007; De Oliveira *et al.*, 2007; Faria *et al.*, 2004); these studies show both paraphyly and polyphyly of genera and often the few monophyletic genera (i.e., *Bromelia*, *Acanthostachys*, among others) are nested within larger generic groups.

Phylogenetic analyzes suggest that the genera *Ananas* Mill. and *Araeococcus* Brongn. are monophyletic (Givnish *et al.*, 2011; Sass and Specht, 2010; Schulte and Zizka, 2008; Schulte *et al.*, 2005). *Aechmea* is highly polyphyletic; morphological and molecular evidence from more extensive sampling of species within the Bromelioideae indicate an even greater degree of polyphyly and paraphyly within this genus (Sass and Specht, 2010; Schulte and Zizka, 2008; Schulte *et al.*, 2005; Faria *et al.*, 2004).

The genus *Canistrum* was rescue as non monophyletic, in the study of Sass and Specht (2010). *Billbergia* was found to be monophyletic (Faria *et al.*, 2004), unlike the findings of Sass and Specht (2010) who, with a greater sample size of nine species, found *Billbergia* not to be monophyletic. *Wittrockia* has been represented by only one species, so we do not know if this genus is monophyletic or not (Sass and Specht, 2010; Schulte *et al.*, 2005; Terry *et al.*, 1997a).

According to phylogenetic studies for Bromeliaceae family, *Greigia*, with two species represented, is monophyletic (Schulte *et al.*, 2009). *Acanthostachys*, also with two species, was displayed in the phylogenetic analysis of Faria *et al.* (2004) and Schulte *et al.* (2009) as monophyletic. Ramírez (1996) used morphological characters to explore the sister taxon relationships and monophyletic status of *Cryptanthus*. Although the monophyly of *Cryptanthus* was supported by a reduction in chromosome number ($x = 17-18$; Ramírez, 1996), molecular characters indicate that this genus is non-monophyletic (Schulte *et al.*, 2005). *Orthophytum* is paraphyletic group (Schulte *et al.*, 2009), whereas *Ronnbergia* is monophyletic genus (Faria *et al.*, 2004), based on the two species sampled.

For *Lymania* a cladistics analysis using morphology and DNA sequences from three chloroplast regions support its monophyly (Sousa *et al.*, 2007). *Edmundoa* comprises three species and is represented by *Edmundoa lindenii* (Regel) Leme in the phylogenetic tree of Schulte *et al.* (2005) and by *Edmundoa perplexa* (L.B. Sm.) Leme in the phylogenetic analysis of Givnish *et al.* (2011). However, we do not have enough elements to determine whether this genus is monophyletic or not. *Neoregelia*, is also not monophyletic (Schulte *et al.*, 2005; Ramírez, 1991). The genera *Pseudaechmea* (1 sp.) and *Disteganthus* (2 spp.) are not represented in any phylogenetic analysis (Table II.2).

Concluding remarks

Bromeliads specialists have increased our knowledge of the family Bromeliaceae over many years of effort and hard work. With a 21.65% of species represented in phylogenetic trees, patterns can be glimpsed: the monophyly of the subfamilies Tillandsioideae and Bromelioideae; the pattern of the subfamilies proposed by Givnish *et al.* (2007), Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Navioideae and Pitcairnioideae. Monophyletic genera were *Brocchinia*, *Alcantarea*, *Catopsis*, *Glomeropitcairnia*, *Guzmania*, *Werauhia*, *Hechtia*, *Steyerbromelia*, *Fosterella*, *Puya*, *Ananas*, *Araeococcus*, *Bromelia*, *Acanthostachys*. The monotypic genera: *Deinacanthon*, *Eduandrea*, *Fascicularia*, *Hohenbergiopsis*, *Pseudananas*, *Pseudaechmea*, *Cottendorfia*, *Sequencia*, whereas the other genera of Bromeliaceae have been retrieved as non-monophyletic.

It is desirable and necessary to have more inclusive phylogenetic hypotheses that represent more taxa, a situation that would allow a more detailed and precise inference of intra family relationships. With these available data, comparative biology studies could be performed and a comprehensive macro-evolutionary hypothesis could be postulated for the family.

CONCLUSIONS

Available phylogenetic analyses for Bromeliaceae have contributed to a better understanding of the evolutionary patterns and kinship relationships within the family. However, the number of taxa included in the existing phylogenetic trees (726 spp.) comprises only 21.65%, a fraction of the total diversity of the Bromeliaceae, rendering our current knowledge and understanding of evolutionary phenomena in this family as fragmentary.

We identified that the subfamilies Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae and Navioideae have been poorly studied. These subfamilies represent 25% of the Bromeliaceae family. One point that appears indisputable is the monophyly of Tillandsioideae and Bromelioideae, which is strongly supported by morphological features as well as by molecular and combined analysis. The great challenge of systematic research now is the circumscription and understanding of generic relationships. The monophyletic genera are: *Brocchinia*, *Alcantarea*, *Catopsis*, *Glomeropitcairnia*, *Guzmania*, *Werauhia*, *Hechtia*, *Steyerbromelia*, *Fosterella*, *Puya*, *Ananas*, *Araeococcus*, *Bromelia*, *Acanthostachys*; other genera of Bromeliaceae were retrieved as non-monophyletic. The genera *Pseudaechmea* (1 sp.) and *Disteganthus* (2 spp.) are not represented within any of the thirty-three phylogenetic studies for the family.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge Sheeba Sreenivasan for her help with the English and the comments on previous drafts of this manuscript; Eric J. Gouda, Curator of the Utrecht University Botanic Gardens, and Carlos Leopardi (CICY) who kindly let us use their pictures; Rodrigo Duno (CICY) and Carlos Leopardi for reviewing earlier draft of this manuscript. The senior author thanks the CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México) for the award of scholarship no. 200523 and for funding an internship at the Harvard University Herbaria and Missouri Botanical Garden in June and July 2012. Also, she is grateful to the staff of the Harvard University Herbaria, Botany Libraries of Harvard University and Missouri Botanical Garden Library for all the support provided during her visit. Thanks to José Luis Tapia Muñoz and María Silvia Hernández Aguilar for their help in obtaining articles. This manuscript is a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Philosophy for Jeanett Escobedo-Sarti.

BIBLIOGRAPHY

- Almeida, R., A. Ferreira, A. Mantovani, V. Gonzalves-Esteves, R. de Oliveira and R. Campostrini (2009). Morphological phylogenetics of *Quesnelia* (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany*, 34: 660–672.
- APG II (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399–436.
- Barfuss, M., R. Samuel, W. Till and F. Stuessy (2005). Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany*, 92: 337–351.
- Beaman, R. and W. Judd (1996). Systematics of *Tillandsia* subgenus *Pseudalcantarea* (Bromeliaceae). *Brittonia*, 48: 1–19.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 690 p.
- Brown, G. and A. Gilmartin (1984). Stigma structure and variation in Bromeliaceae. Neglected taxonomic characters. *Brittonia*, 36: 364–374.
- Brown, G. and A. Gilmartin (1989). Stigma types in Bromeliaceae – a systematic survey. *Systematic Botany*, 14: 110–132.

- Brown, G. and R. Terry (1992). Petal appendages in Bromeliaceae. *American Journal of Botany*, 79: 1051–1071.
- Chase, M., M. Fay, D. Devey, O. Maurin, N. Ronsted, J. Davies, Y. Pillon, G. Petersen, O. Seberg, M. Tamura, C. Asmussen, K. Hilu, T. Borsch, J. Davis, D. Stevenson, C. Pires, T. Givnish, K. Sytsma, M. McPherson, S. Graham and H. Rai (2006). Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso*, 22: 63–75.
- Chew, T., D. L. E. and D. González (2010). Phylogenetic relationships of the pseudobulbous *Tillandsia* species (Bromeliaceae) inferred from cladistic analyses of ITS2, 5.8S ribosomal RNA gene, and ETS sequences. *Systematic Botany*, 35: 86–95.
- Clark, W., B. Gaut, M. Duval and M. Clegg (1993). Phylogenetic relationship of the Bromeliiflorae-Commeliniflorae-Zingiberiflorae Complex of Monocots based on *rbcL* sequence comparisons. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80: 987–998.
- Crayn, D., K. Winter and J. Smith (2004). Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology*, 101: 3703–3708.
- De Oliveira, F., T. Wendt, G. Brown, D. Tuthill and T. Evans (2007). Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. *Systematic Biology*, 32: 264–270.
- Duvall, M., M. Clegg, M. Chase, W. Clark, W. Kress, G. Hills, L. Eguiarte, F. Smith, B. Gaut, E. Zimmer and G. Learn (1993). Phylogenetic hypotheses for the Monocotyledons constructed from *rbcL* sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80: 607–619.
- Espejo-Serna, A. (2002). *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de México. *Acta Botanica Mexicana*, 60: 25–35.
- Espejo-Serna, A. (2003). *Sistemática del Complejo de Especies de Tillandsia plumosa Baker (Tillandsioideae: Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F., México. 513 p.
- Faria, G., T. Wendt and G. Brown (2004). Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) and allied genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 91: 303–319.
- Forzza, C. (2001). *Filogenia da Tribo Puyeeae Wittm. e Revisão Taxonômica do Gênero Encholirium Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. 210 p.

- Gardner, C. (1982). *A Systematic Study of Tillandsia Subgenus Tillandsia*. Ph.D. thesis, Texas A&M University, Texas, U.S.A. 306 p.
- Gilmartin, A. and G. Brown (1986). Cladistic test of hypotheses concerning evolution of xerophytes and mesophytes within *Tillandsia* subg. *Phytarrhiza* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, 73: 387–397.
- Gilmartin, A. and G. Brown (1987). Bromeliales, related Monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae Subfamilies. *Systematic Botany*, 12: 493–500.
- Gilmartin, A., G. Brown, G. Varadarajan and M. Neighbours (1989). Status of *Glomeropitcairnia* within evolutionary history of Bromeliaceae. *Systematic Botany*, 14: 339–348.
- Gitaí, J., R. Horres and A. Benko-Iseppon (2005). Chromosomal features and evolution of Bromeliaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 253: 65–80.
- Givnish, T., M. Barfuss, B. Van Ee, R. Riina, K. Schulte, R. Horres, P. Gonsiska, R. Jabaily, D. Crayn, J. Smith, K. Winter, G. Brown, T. Evans, B. Holst, H. Luther, W. Till, G. Zizka, P. Berry and K. Sytsma (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98: 1–24.
- Givnish, T., K. Millam, P. Berry and K. Sytsma (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso*, 23: 3–26.
- Givnish, T., K. Millam, T. Evans, J. Hall, J. Pires, P. Berry and K. Sytsma (2004). Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunction in Rapataceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequences and morphology. *Evolution*, 54: 1915–1937.
- Givnish, T., J. Pires, S. Graham, M. McPherson, L. Prince, T. Patterson, H. Rai, E. Roalson, T. Evans, W. Hahn, K. Millam, A. Meerow, M. Molvray, P. Kores, H. O'brien, J. Hall, W. Kress and J. Sytsma (2006). Phylogenetic relationship of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso*, 22: 28–51.
- Givnish, T., K. Sytsma, J. Smith, W. Hahn, D. Benzing and E. Burkhardt (1997). Molecular evolution and adaptive radiation in *Brocchinia* (Bromeliaceae: Pitcairnioideae) atop Tepuis of the Guayana Shield. In G. T.J. and K. Sytsma (eds.) *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*, pp. 259–311. Cambridge University Press, Cambridge, USA.

- Gomes da Silva, J., V. Costa, R. Oliveira and A. Costa (2012). A morphological cladistic analysis of the *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae), with anatomical descriptions: new evidence of the non-monophyly of the genus. *Systematic Botany*, 37: 641–654.
- Gonsiska, P. (2010). *Aspects of the Evolutionary Ecology of the Genus Catopsis (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, University of Wisconsin-Madison, Wisconsin, U.S.A. 100 p.
- Graham, S., J. Zgurski, M. McPherson, D. Cherniawsky, J. Saarela, E. Horne, S. Smith, W. Wong, H. O'Brien, V. Biron, J. Pires, R. Olmstead, M. Chase and H. Rai (2006). Robust inference of monocot deep phylogeny using an expanded multigene plastid data set. *Aliso*, 22: 3–20.
- Granados, C. (2008). *Sistemática del Complejo Tillandsia macdougallii (Bromeliaceae)*. Master's thesis, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 75 p.
- Halbritter, H. (1992). Morphologie und systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. *Grana*, 31: 197–212.
- Harms, H. (1930). Bromeliaceae. In A. Engler and K. Prantl (eds.) *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, pp. 65–159. Engelmann, Leipzig, Germany.
- Holst, B. (1997). Bromeliaceae. In B. P.E, Steyermark and K. J.A, Yatskievych (eds.) *Flora of the Venezuelan Guayana*, volume 3, pp. 548–676. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis Missouri, U.S.A.
- Hornung-Leoni, C. and V. Sosa (2008). Morphological phylogenetics of *Puya* subgenus *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156: 93–110.
- Horres, R., G. Kahl and K. Weising (2000). Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from *trnL* (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology*, 2: 306–315.
- Horres, R., K. Schulte, K. Weising and G. Zizka (2007). Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae)-evidence from molecular and anatomical studies. *Aliso*, 23: 27–43.
- Jabaily, R. and K. Sytsma (2010). Phylogenetics of *Puya* (Bromeliaceae): placement, major lineages, and evolution of Chilean species. *American Journal of Botany*, 97: 337–356.
- Luther, H. (2012). *An Alphabetical List of Bromeliad Binomials*. Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International, Sarasota, USA, 44 p.

- Marchant, C. (1967). Chromosome evolution in the Bromeliaceae. *Kew Bulletin*, 21: 161–168.
- Martin, C. (1994). Physiological Ecology of the Bromeliaceae. *The Botanical Review*, 60: 1–82.
- Martínez, C. (2008). *Sistemática del Complejo de Especies de Hechtia podantha Mez (Pitcairnioideae, Bromeliaceae)*. Master's thesis, Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F., México. 196 p.
- Matallana, T. (2010). *Sistemas Reproductivos, Ecologia da Polinização e Hibridização em Bromeliaceae numa perspectiva local à evolutiva*. Ph.D. thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 197 p.
- Mez, C. (1896). Bromeliacées. *Monographiae Phanerogamarum*, 9: 1–951.
- Palací, C. (1997). *A Systematic Revision of the Genus Catopsis (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, University of Wyoming, Wyoming, U.S.A. 245 p.
- Peters, J. (2009). *Revision of the Genus Fosterella (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, Universität Kassel, Kassel, Germany. 202 p.
- Pinzón, J., I. Ramírez and G. Carnevali (2011). Morphometric analyses within the *Tillandsia utriculata* L. complex (Bromeliaceae) allow for the recognition of a new species, with notes on its phylogenetic position. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 138: 353–365.
- Ramírez, I. M. (1991). *Systematic Revision of Neoregelia Subgenus Hylaeaicum (Bromeliaceae)*. Master's thesis, University of Missouri-St. Louis, St. Louis Missouri, U.S.A. 113 p.
- Ramírez, I. M. (1996). *Systematics, Phylogeny, and Chromosome Number Evolution of Cryptanthus (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, University of Missouri-St. Louis, St. Louis Missouri, U.S.A. 268 p.
- Ramírez, I. M. and G. K. Brown (2001). The origin of the low chromosome number in *Cryptanthus* (Bromeliaceae). *Systematic Botany*, 26: 722–726.
- Ramírez, I. M., A. Espejo-Serna and A. López-Ferrari (2011). A New Species of *Hechtia* (Bromeliaceae) from Chihuahua, Mexico. *Novon*, 21: 362–367.
- Ranker, T., D. Soltis, P. Soltis and A. Gilmartin (1990). Subfamilial phylogenetic relationships of the Bromeliaceae: evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Systematic Botany*, 15: 425–434.

- Reinert, F., C. Russo and L. Salles (2003). The evolution of CAM in the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 80: 261–268.
- Rex, M., K. Patzolt, K. Schulte, G. Zizka, R. Vásquez, L. Ibisch and K. Weising (2007). AFLP analysis of genetic relationship in the genus *Fosterella* L. B. Smith (Pitcairnioideae, Bromeliaceae). *Genome*, 50: 90–105.
- Rex, M., K. Schulte, G. Zizka, J. Peters, R. Vásquez, P. Ibisch and K. Weising (2009). Phylogenetic analysis of *Fosterella* L. B. Sm. (Pitcairnioideae, Bromeliaceae) based on four chloroplast DNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51: 472–485.
- Robinson, H. and D. Taylor (1999). The status of the Pitcairnioid genera of the Bromeliaceae. *Harvard Papers in Botany*, 4: 195–202.
- Sass, C. and C. Specht (2010). Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 559–571.
- Schulte, K., M. Barfuss and G. Zizka (2009). Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51: 327–339.
- Schulte, K., R. Horres and G. Zizka (2005). Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). *Senckenbergiana Biology*, 85: 113–125.
- Schulte, K., D. Silvestro, E. Kiehlmann, S. Vesely, P. Novoa and G. Zizka (2010). Detection of recent hybridization between sympatric Chilean *Puya* species (Bromeliaceae) using AFLP markers and reconstruction of complex relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57: 1105–1119.
- Schulte, K. and G. Zizka (2008). Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. *Candollea*, 63: 209–255.
- Smith, L. (1934). Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 66: 446–465.
- Smith, L. and R. Downs (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 1–662.
- Smith, L. and R. Downs (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 663–1492.

- Smith, L. and R. Downs (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 1493–2142.
- Smith, L. and M. Spencer (1993). *Racinaea*, a new genus of Bromeliaceae (Tillandsioideae). *Phytologia*, 74: 1–160.
- Smith, L. and W. Till (1998). Bromeliaceae. In K. Kubitzki (ed.) *The Families and Genera of Vascular Plants IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*, pp. 74–99. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Sousa, L., T. Wendt, G. Brown, D. Tuthill and T. Evans (2007). Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. *Systematic Botany*, 32: 264–270.
- Spencer, M. and L. Smith (1992). A revision of the genus *Deuterocohnia* Mez (Bromeliaceae: Pitcairnioideae). *Bradea*, 6: 141–145.
- Terry, R., G. Brown and R. Olmstead (1997a). Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany*, 84: 664–670.
- Terry, R., G. Brown and R. Olmstead (1997b). Phylogenetic Relationships in Subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* sequences. *Systematic Botany*, 22: 333–345.
- Till, W. (1992). Systematics and evolution of the tropical-subtropical *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae). *Selbyana*, 13: 88–94.
- Varadarajan, G. (1986). *Taxonomy and Evolution of the Subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, Washington State University, Washington, U.S.A. 304 p.
- Varadarajan, G. and A. Gilmartin (1987). Foliar scales of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Systematic Botany*, 12: 562–571.
- Varadarajan, G. and A. Gilmartin (1988a). Phylogenetic relationships of groups of genera within the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Systematic Botany*, 13: 283–293.
- Varadarajan, G. and A. Gilmartin (1988b). Seed Morphology of the Subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and Its Systematic Implications. *American Journal of Botany*, 75: 808–818.
- Varadarajan, G. and A. Gilmartin (1988c). Taxonomic realignments within the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Systematic Botany*, 13: 294–299.

Versieux, L., T. Barbará, L. Gracas, A. Calvente, F. Michael and C. Lexer (2012). Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (*Alcantarea*, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 177–189.

A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods²

ABSTRACT

There are 26 phylogenetic studies for Bromeliaceae based on different sources of evidence. Despite this broad phylogenetic coverage of Bromeliaceae, however, the available phylogenetic data display a scattered sampling, with little overlap among different types of evidence. The aim of this study is to integrate the available phylogenetic information of the Bromeliaceae in one hypothesis using a supertree. To test which of them integrates best the information for Bromeliaceae, nine supertree methods were employed: Avcon, MSS, MinFlip, MMC, MRP, PhySIC_IST, Robinson-Foulds Supertree, Sfit, and SuperFine. Supertrees were compared with a reference tree, generated from the maximum likelihood (ML) analysis of a supermatrix integrated by 120 taxa of Bromeliaceae and seven cpDNA regions. In order to select which method best reconstructs the most robust phylogeny, two different sets of source trees were used: (i) those generated from the analysis of each individual DNA regions, and (ii) four selected phylogenies (from the 26 published works). We used the consensus fork index, normalized partition metric, patristic distance coefficient, and the Shimodaira-Hasegawa test to compare supertrees with the reference tree. The best performing methods were used to construct a supertree using all phylogenies of Bromeliaceae. The SuperFine method generated the best supertree. The lack of overlapping among phylogenies was the major limiting factor for the integration of the phylogenetic information of Bromeliaceae. Nonetheless, supertree methods helped in the identification of poorly sampled groups, as well as to explore levels of agreement among published phylogenetic studies for Bromeliaceae.

KEYWORDS: Bromeliaceae, cladistics, meta-analysis, phylogenetic analysis, supermatrix, supertree.

INTRODUCTION

Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) is a Neotropical plant family that constitutes a monophyletic group supported by strong molecular and morphological synapomorphies APG

²Escobedo-Sarti G.J., I. Ramírez, C. Leopardi, G. Carnevali, S. Magallón, R. Duno y D. Mondragón. 2013. A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. *Journal of Systematics and Evolution*, *en prensa*.

II (2003). It is a highly diverse group (3346 species in 58 genera; Luther, 2012) and its members occur in environments ranging from hyper-humid tropical rain or cloud forests to the driest deserts (such as the Chilean Atacama Desert), and from sea level up to 4200 m. Plants can be found growing as terrestrials, epiphytes, or lithophytes (Smith and Downs, 1979, 1977, 1974).

Traditionally, Bromeliaceae have been divided into three subfamilies (Pitcairnioideae, Tillandsioideae, and Bromelioideae) that were distinguished by morphological characters of the flowers, fruits, and seeds (Smith and Till, 1998; Smith and Downs, 1979, 1977, 1974; Mez, 1896). However, this view has been challenged by molecular studies. Based on a *ndhF* phylogeny, Givnish *et al.* (2007) established a new concept of eight bromeliad subfamilies (Tillandsioideae, Bromelioideae, Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Puyioideae, Navioideae, and Pitcairnioideae s. str.) primarily characterized by the morphology of flowers, fruits, seeds, and molecular data (Givnish *et al.*, 2011, 2007).

There is a wealth of phylogenetic studies based on Bromeliaceae that include taxa at all taxonomical ranks. These include the genus (i.e., Sass and Specht, 2010; Almeida *et al.*, 2009), subfamily (i.e., Schulte *et al.*, 2009; Barfuss *et al.*, 2005), or family (Givnish *et al.*, 2011, 2007) levels. Evidence for these phylogenetic estimations spans all kinds of characters from basic morphology to nucleotide sequences. However, despite this relatively broad phylogenetic coverage of the Bromeliaceae, the available phylogenetic hypotheses display scattered sampling, with little overlap among different groups of evidence, so it is almost impossible to combine all data available in a supermatrix. Therefore, to integrate the available phylogenetic information of the Bromeliaceae, and to build a hypothesis of relationships reflecting the taxonomic diversity of the family is preferable to use a meta-analysis method, like a supertree, rather than the available primary evidence (Sanderson *et al.*, 1998).

Supertree methods provide a formal approach for combining phylogenetic trees (called source or input trees) with incomplete species overlap in order to build comprehensive phylogenies (called supertrees), that show the relationships found in the input trees (Bininda-Emonds, 2004; Sanderson *et al.*, 1998).

The design of algorithms for supertree construction is a very active field of research to the point where currently there are at least 20 supertree construction methods (Swenson *et al.*, 2012; Bansal *et al.*, 2010; Ranwez *et al.*, 2007; Bordewich *et al.*, 2006; Bininda-Emonds, 2004). Since these methods perform differently (because of their inherent algorithmic diversity), Steel *et al.* (2000) and Wilkinson *et al.* (2004) suggested several properties that are desirable in supertree methods that can be summarized in three main points. First, there should be a close phylogenetic correspondence between the primary source trees and the

resulting supertree. Second, supertree algorithms should be easy to use and capable of reasonable performances under all circumstances; in other words, they should be general and not useful only for particular cases. Third, the time taken to complete the searches should be reasonable. These properties have not been thoroughly evaluated in different supertree methods using empirical data.

Supertree methods have been criticized because they do not rely upon primary data to derive a phylogenetic hypothesis (Gatesy *et al.*, 2004; Rodrigo, 1996, 1993). However, comparisons of the supertree and supermatrix approaches using simulated data have retrieved consistently similar results (Swenson *et al.*, 2010; Levasseur and Lapointe, 2006; Eulenstein *et al.*, 2004; Bininda-Emonds and Sanderson, 2001). These comparisons have been made with empirical data using the matrix representation with parsimony (MRP) method against a supermatrix (Kennedy and Page, 2002) as well as with variants of the MRP, against a supermatrix (Baker *et al.*, 2009; Salamin *et al.*, 2002). Their results strongly suggest that supertree approaches offer a good estimation of taxa relationships as do the supermatrix.

Buerki *et al.* (2011) were the first to publish an empirical study (based on Sapindaceae) that compared the performance of seven supertree algorithms: MRP according to Baum & Ragan (Baum, 1992; Ragan, 1992) and Purvis (1995), MinFlip, maximum splits fit (Sfit), average consensus (Avcon), most similar supertree (MSS), super distance matrix (SDM), and MinCut. The seven methods were comparatively evaluated on several criteria: similarity of the output supertrees to the source trees, similarity of the supertrees to total evidence tree, the degree of resolution of the output supertrees, and the computing time required by the algorithm to complete its search. Their results suggest that MRP, MinFlip, and MinCut perform better than Avcon, Sfit, and MSS over all the criteria evaluated.

Here we report the results of an empirical study where the performance of nine supertree algorithms are evaluated integrating the available phylogenetic information of Bromeliaceae.

The nine supertree methods used were Avcon, MSS, MinFlip, modified mincut supertree (MMC), MRP, phylogenetic signal with induction and non-contradiction (PhySIC_IST), Robinson-Foulds supertree (RF-ST), Sfit, and Superfine+MRP.

Buerki *et al.* (2011) suggest the use of a cladogram derived from a supermatrix as a "null hypothesis" or reference tree to comparatively evaluate the resulting supertrees. Thus, we constructed a supermatrix of molecular characters for taxa found in a selection of source trees; this matrix was analyzed under the maximum likelihood. The supertrees were compared against the reference tree using the consensus fork index (CFI), the normalized partition metric (NPM), the patristic distance coefficient (PDC), and the Shimodaira-Hasegawa (SH) test. Afterwards, the methods with better performance were used to build a supertree using all phylogenies currently available for the Bromeliaceae (Figure III.1).

MATERIALS AND METHODS

Supermatrix Analysis

We compiled a matrix of 121 taxa (120 bromeliads, and *Typha angustifolia* L. as outgroup) with 9243 molecular characters (with 39.44% of gaps) based upon information published in GenBank (Benson *et al.*, 2013) from the following cpDNA data: *atpB-rbcL*, *trnK-matK*, *ndhF*, *psbA-trnH*, *rpl32-trnL*, *rps16*, and *trnL-trnF* (Table III.1). The matrix was aligned with Muscle (Edgar, 2004). The partitioned matrix was analyzed with maximum likelihood using RAxML v.2.8 (Stamatakis, 2006). Searches consisted of 500 iterations of rapid bootstrap, after which the search of the ML tree, for all partitions the GTR+GAMMA model was used (Figure III.1).

Supertree Analyses

Source trees

Partition Source Trees (PST). A series of seven trees (Figure III.1) were generated, one each per DNA regions that integrate the supermatrix. Each region was analyzed with PAUP* 4.0.10 (Swofford, 2002) with the Ratchet algorithm (Nixon, 1999). Parsimony searches were performed under the following parameters: Ratchet, with 500 iterations and 10 random cycles. The batch file used to execute Ratchet in PAUP* was prepared with PRAP2 (Müller, 2004). Then a 50% majority-rule consensus tree was calculated. Since these trees were used to test the nine supertree methods and because the consulted literature commonly features majority-rule consensus or other poorly resolved trees, we opted for this kind of consensus to faithfully emulate the conditions under which these methods would work with published phylogenies. For each tree generated (one per region), the degree of resolution was estimated with the CFI (Colles, 1980) using PAUP (Swofford, 2002).

Literature Source Trees (LST). We searched for phylogenetic hypotheses based on Bromeliaceae using Google Scholar; keywords for these searches were a combination of phylogeny, taxonomy, clade, cladistic, and evolution with the terms Bromeliaceae, bromeliads, as well as with the names of the subfamilies and genera that compose the family. We retrieved 26 phylogenetic studies in the Bromeliaceae, spanning all taxonomic ranks within the family. To standardize and make compatible names across phylogenies, nomenclature was updated using Taxonomic Resolution Service (Boyle *et al.*, 2013).

In order to quantify the amount of resolution in the 26 source trees, the CFI (Colles, 1980) was calculated using PAUP* 4.0.10 (Swofford, 2002). Furthermore, the degree of taxonomic overlap (i.e., all source trees should at least share two taxa; Bininda-Emonds *et al.*, 2002;

Sanderson *et al.*, 1998; Gordon, 1986) was verified with the script *Stk_check_overlap.pl*, as implemented in the Supertree Tool Kit (STK; Davis and Hill, 2010). In a first stage of the analysis, we decided to use a subset of only four source trees that together have a wide coverage of the family (120 taxa in all subfamilies) and a reasonable degree of taxonomic overlap (> taxa, ca. 10% overlap). This was done because the degree of overlap among the 26 source trees selected was too low and broad overlap for an adequate estimation of supertree methods performances was required. The phylogenies of Horres *et al.* (2000) and Matalana (2010) at the family level were not employed because they featured poor resolution (Figure III.2).

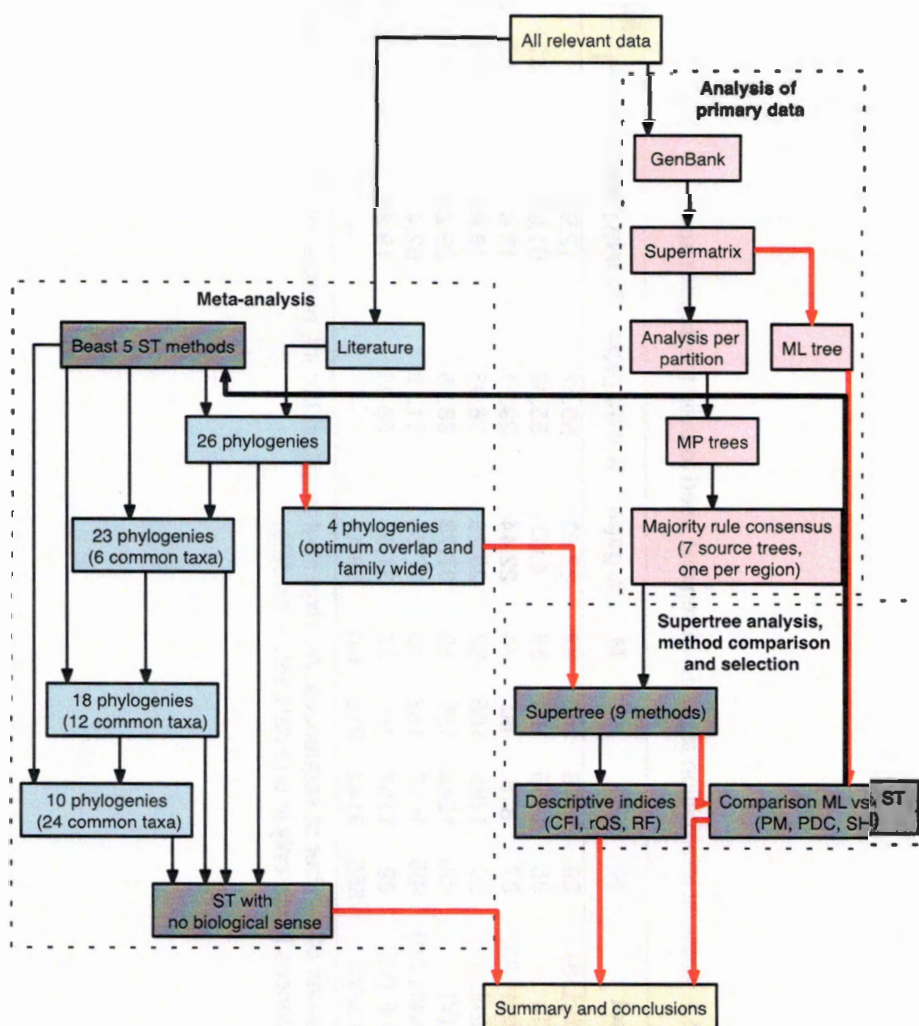


Figure III.1. Schematic representation of methodologies used in this study (see text for details).

Table III.1. General information about DNA regions used to build the supermatrix.

Data set	N [‡]	Al	Inf	M	% gaps	% max gaps	% min gaps	S	Number of shared sequences						
									I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>atpB-rbcL</i> (I)	89	1248	103	32	22.93	60.57	12.98	1							
<i>ndhF</i> (II)	85	1866	184	36	4.60	55.36	01.07	10	67						
<i>psbA-trnH</i> (III)	87	818	60	34	22.44	29.21	13.69	0	85	64					
<i>rpl32-trnL</i> (IV)	89	1199	165	32	23.26	36.95	18.68	0	87	70	84				
<i>rps16</i> (V)	106	1243	125	15	37.78	38.86	29.28	0	88	71	85	89			
<i>trnK-matK</i> (VI)	105	1612	182	16	17.80	51.18	02.43	0	84	73	82	85	101		
<i>trnL-trnF</i> (VII)	89	1157	96	32	31.94	60.24	19.96	0	87	68	84	88	89	85	
Supermatrix	650	9143	915	197	39.44	—	—		89	85	87	89	106	105	89

[‡] N, values of number of sequences; Al, alignment length in bp; Inf, number of informative characters; M, missing sequences; S, sequences found only in one data set; —, no data.

The four selected phylogenies were published by Terry *et al.* (1997), Crayn *et al.* (2004), Givnish *et al.* (2007), and Givnish *et al.* (2011); we used the published phylogenies in all cases (Figure III.1). In Terry *et al.* (1997), the majority-rule consensus tree of 120 most parsimonious trees derived from parsimony analysis of *ndhF* cpDNA was used as source tree; in Crayn *et al.* (2004) analysis, the single published tree was used; in Givnish *et al.* (2007), the published tree, which is one among 12 equally most parsimonious trees resulting from a parsimony analysis of the *ndhF* cpDNA was used; finally, in Givnish *et al.* (2011) the majority rule consensus tree of a parsimony analysis of eight plastid regions was used, because it was the best resolved. These phylogenies account for 120 out of 3346 species (ca. 3.58%) and 48 out of 58 genera (ca. 81%) currently recognized in the family. These source trees were transformed into newick format by hand to make them readable by the supertree software. Four taxa were expressly excluded from the study, because they remain identified only to genus: *Bromelia* sp. (GenBank accession L75860), which was present in the phylogenies of Terry *et al.* (1997) and Givnish *et al.* (2007), *Dyckia* sp., *Encholirium* sp., and *Lindmania* sp., which were represented in the phylogeny of Givnish *et al.* (2007).

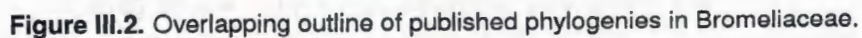
Supertree reconstruction

Avcon (Lapointe and Levasseur, 2004; Levasseur and Lapointe, 2001; Lapointe and Cucumel, 1997; Landry *et al.*, 1996): the distance matrix of Avcon was integrated with the use of Clann version 3.0.0 (Creevey and McInerney, 2005). Afterwards, this matrix was analyzed with PAUP* 4.0.10 (Swofford, 2002) under the following parameters for the heuristic search: the initial tree was calculated with a neighbor-joining (NJ) as starting tree, 500-iterations, TBR branch swapping, that was limited to 1000000 re-arrangements. A majority-rule consensus tree was computed from the resulting supertrees.

MSS (Creevey and McInerney, 2005) and **Sfit**: These analyses were performed with Clann version 3.0.0 (Creevey and McInerney, 2005). Search criteria for both analyses were as follows: 1000 samples, 100 iterations of the heuristic search using SPR but with a re-arrangement limit of 10000. Then a majority-rule consensus tree was generated from each analysis.

MMC (Page, 2002): RAINBOW a supertree toolbox, Version 1.2 beta was used (Chen *et al.*, 2004).

MRP: The analysis was performed according to Baum and Ragan (BR; Baum, 1992; Ragan, 1992). The source trees were coded in a matrix using the SuperMRP.pl script (Bininda-Emonds, 2011c). The resulting matrix was analyzed with PAUP* 4.0.10 (Swofford, 2002) with the Ratchet algorithm (Nixon, 1999). Parsimony searches were performed under the



following parameters: Ratchet, with 500 iterations and 10 random cycles. The batch file used to execute Ratchet in PAUP* was prepared with PRAP2 (Müller, 2004). Then, a 50% majority-rule consensus tree was calculated.

MinFlip (Eulenstein *et al.*, 2004): the matrix calculated for the MRP analysis was used; it was analyzed with Chen's heuristic supertree software (Chen *et al.*, 2004) with 1000 replicates, and using SPR. Then a 50% majority-rule consensus tree was calculated.

PhySIC_IST (Scornavacca *et al.*, 2008; Ranwez *et al.*, 2007): the source trees were analyzed with PhySIC_IST 1.0.1 software (Scornavacca *et al.*, 2008), using the following parameters: no guiding tree, external group not explicitly stated, bootstrap threshold values from source trees were not used to restrict the clade formation, and correction threshold in pre-treatment was 0.5. This threshold value was selected because it is intermediate between elimination of a triplet that is infrequent (zero), and no changes (one).

RF-ST (Bansal *et al.*, 2010): This analysis was performed with the Robinson-Foulds Supertrees v. 2.0 software (Bansal *et al.*, 2010). SPR was used for branch permutation.

Superfine (Swenson *et al.*, 2012): MRP (Superfine+MRP) was used as a "base method". This method is codified to run in runReup.py (Swenson *et al.*, 2012) and requires DendroPy (Sukumaran and Holder, 2010).

Supertree evaluation

The CFI and the Qualitative Support reduced (rQS) index (Bininda-Emonds, 2003) were estimated for each supertree (Figure III.1); the first index quantifies the amount of resolution of a tree and ranges from 0 (a tree without resolution) to 1 (a completely resolved tree). The rQS index quantifies the relative degree of support among the set of source trees for each node in the supertree (Price *et al.*, 2005; Bininda-Emonds, 2003). The rQS index was calculated with QualiTree.pl v. 1.2.1. (Bininda-Emonds, 2011b), using 10000 bootstrap iterations.

We used the normalized partition metric distance (NPM) to assess the topological differences between the ML tree and the output supertrees (Figure III.1) calculated with the script partitionMetric.pl v. 1.2.1 (Bininda-Emonds, 2011a). This index estimates the proportion of non-identical nodes between two trees with the same subset of taxa. The script deletes taxa absent from any of the two supertrees being compared to complete the calculation, and assumed to scale between 0 and 1.

The degree of agreement between the output supertrees and the source trees was estimated using the Robinson-Foulds distance according to Bansal *et al.* (2010); this is not a distance measurement, it is an adapted version of the RF distance; the analysis was performed with the RF-report tool (Bansal *et al.*, 2010). This test was not performed for the supertree generated by the PhySIC_IST method because it does not involve all of the taxa in the source trees.

We used the patristic distance coefficient (PDC) to estimate the similarity between the reference tree and the output supertrees (Figure III.1), which was implemented with the Tree Set Viz 3.0 (Hillis *et al.*, 2005) module of Mesquite 2.74 (Maddison and Maddison, 2007).

The Shimodaira and Hasegawa (1999) test was employed to determine the fit of the output supertrees to the supermatrix (Figure III.1). Since this test requires that the compared trees have branch lengths, the test was performed in three steps, as follows. First, Jmodeltest 2.1.1 (Darriba *et al.*, 2012) was used to calculate the evolutionary models for each of seven DNA regions. The models identified were HKY+I+G for the *atpB-rbcL*, and *psbA-trnH* regions, and GTR+I+G for the *ndhF*, *rpl32-trnL*, *rps16*, *trnK-matK*, and *trnL-F* regions. Second, branch lengths were optimized in each supertree with GARLI 2.0 (Zwickl, 2006), with the option “fixed topology” for each supertree to avoid the topology mutation of the supertrees, and using a partitioned DNA matrix. Third, the SH test was performed using the Phangorn module (Schliep, 2011) of R (R Core Team, 2012). This test could not be performed for the PhySIC_IST supertree because it only partially shared the taxa of the supermatrix.

Supertree of Bromeliaceae

Once the best supertree methods for the integration of the phylogenetic information of the Bromeliaceae were elucidated, analyses were performed using the 26 phylogenies previously specified (Figure III.1). Due to overlapping problems (see results), the analysis was also performed with 23, 18, and 10 phylogenies (Figure III.1).

RESULTS

Supermatrix Analysis

The number of sequences included in each matrix ranged from 85 (*ndhF*) to 106 (*rps16*). The supermatrix was composed of 650 sequences for 121 taxa (Table III.1). The length of the alignments ranged from 818 bp in *psbA-trnH* to 1866 bp in *ndhF* (Table III.1). The number of sequences found only in one partition ranged from 0 (i.e., *rps16*) to 10 in *ndhF*.

ML tree and Input Trees

ML tree (reference tree): The supermatrix was composed of 9143 characters (Table III.1). The supermatrix analysis of likelihood (log likelihood= -35409.8) suggests that subfamilies Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, and Hechtioideae are monophyletic whereas Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae, and Bromelioideae are not.

Partition Source Trees (PST): Table III.2 features the values of cladistic goodness of fit of each measurement for the seven data subsets. The consistency index (CI) varies from 0.64 (*psbA-trnH*) to 0.75 (*trnL-trnF*). The retention index (RI) ranges from 0.75 in *rpl32-trnL* to 0.84 in *trnL-trnF*, while that of the CFI is of 0.57 in *psbA-trnH* to 0.79 in *trnK-matK* (Table III.2).

Table III.2. Values for the measures of goodness of fit for the partition cladistic Source Trees (PST).

Data set	CI [‡]	RI	CFI
<i>atpB-rbcL</i>	0.66	0.80	0.79
<i>ndhF</i>	0.69	0.79	0.79
<i>psbA-trnH</i>	0.64	0.76	0.57
<i>rpl32-trnL</i>	0.68	0.75	0.66
<i>rps16</i>	0.67	0.83	0.64
<i>trnK-matK</i>	0.71	0.81	0.79
<i>trnL-trnF</i>	0.75	0.84	0.74

[‡] CI, Consistency Index; RI, Retention Index; CFI, Consensus Fork Index.

Source Trees from the literature (LST): The CFI ranges from 0.776 in the Crayn *et al.* (2004) phylogeny to 0.989 in that of Givnish *et al.* (2011). Shared taxa ranges from 10 between the Crayn *et al.* (2004) and Givnish *et al.* (2007) phylogenies, to 32 between the Crayn *et al.* (2004) and Givnish *et al.* (2011) phylogenies.

Supertree Evaluation

Output supertrees from MSS, Avcon, Sfit, MRP, Minflip, SuperFine, RF-ST, and MMC were fairly well resolved (CFI values > 0.8), all those generated with the PST and by the LST. The supertree generated by PhySIC_IST had the largest number of metaphyletic clades (Table III.3).

Avcon, MSS, and Sfit were the methods that generated supertrees with the most negative rQS values (both with PST and LST); the mismatches were distributed across most of the nodes (Table III.4). Supertrees generated by PhySIC_IST and RF-ST featured mostly positive rQS values (Table III.4). With LST based trees, the MRP, MMC, Minflip, and Superfine

Table III.3. Values of Consensus Fork Index (CFI), Robinson-Foulds distances (RF), Normalized Partition Metric Index (NPM), Patristic Distance Coefficient (PDC), test of Shimodaira and Hasegawa (SH) of the supertrees used in the comparison of the nine methods.

Supertree method	Partition Source Trees (PST)					Literature Source Trees (LST)					
	CFI	RF [†]	NPM [†]	PDC [†]	SH	CFI	RF [†]	NPM [†]	PDC [†]	SH	PDCI [§]
Avcon	0.992	918	0.886	0.626	0.000	1.000	358	0.974	0.330	0.000	0.006
MSS	1.000	1086	1.000	0.124	0.000	1.000	378	1.000	0.131	0.000	0.011
Minflip	0.975	628	0.309	0.925	0.839	0.983	128	0.500	0.921	0.466	0.964
MMC	0.874	732	0.691	0.671	0.021	0.847	84	0.444	0.847	0.479	0.958
MRP	0.941	644	0.309	0.899	0.855	0.992	84	0.444	0.925	0.714	0.992
PhySIC_IST	0.653	NA	0.236	NA	NA	0.686	NA	0.364	NA	NA	1.000
RF-ST	0.864	538	0.288	0.835	0.583	0.992	26	0.418	0.927	0.591	0.975
Sfit	0.983	1040	0.949	0.25	0.000	1.000	352	0.991	0.000	0.000	0.006
Superfine	0.992	610	0.369	0.910	0.936	0.847	118	0.384	0.930	0.922	0.995

[†] Compared with source trees.

[†] Compared with reference tree.

[§] Patristic Distance Coefficient between supertree based on source trees ordered from major to less inclusive source trees and supertree based on source trees in the inverted order (see text for details).

Table III.4. rQS values for supertrees generated in this study.

Supertree method	PST [†]			LST [§]		
	H [‡]	Hm	E	H	Hm	E
Avcon	268	1114	270	35	262	179
MSS	10	655	168	4	254	218
MinFlip	271	270	194	167	95	206
MMC	201	376	144	171	33	204
MRP	268	352	171	204	48	224
PhySIC_IST	267	137	142	190	2	136
RF-ST	614	454	374	243	6	223
Sfit	33	635	151	20	230	226
Superfine	272	351	203	144	76	184

[†] Partition Source Trees.

[§] Literature Source Trees.

[‡] H, Hardmatch; Hm, Hardmismatch; E, equivocal.

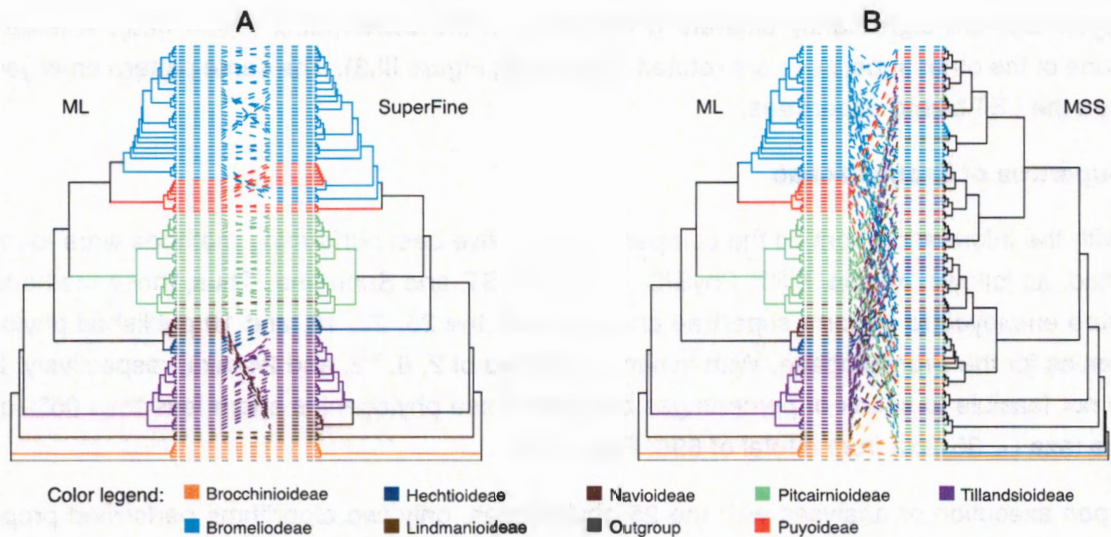


Figure III.3. Comparison of the reference tree (supermatrix) with the (A) best supertree obtained in this study (SuperFine based in PST) and the (B) worse supertree obtained in this study from (MSS based on PST).

methods generated supertrees with negative rQS values, mainly at deep branches of the phylogenies, whereas the most of the high and medium order branches show equivocal or positive values (Table III.4).

Supertrees generated with the RF-ST, Superfine, MinFlip, MRP, and MMC methods display better agreement with the source trees, as evaluated through the Robinson-Foulds distance,

both in the trees generated from the PST and the LST (Table III.3).

When the output supertrees are compared against the reference tree using the NPM, those generated by the Minflip, MRP, PhySIC_IST, RF-ST, and SuperFine methods showed greater agreement (values ≤ 0.5 ; Table III.3; Figure III.3). This was similar for both trees based upon PST and LST.

When PST based supertrees are compared against the reference tree using the Patristic Distance Coefficient (PDC), we find that supertrees built with SuperFine, MinFlip, MRP, and RF-ST feature the highest values, which indicated greater similarity to the reference tree (Figures III.3–III.4). The methods Avcon, Sfit and MSS feature low coefficients, pointing to a low similarity with the reference tree (Table III.3; Figure III.3). The same pattern emerged when LST-based supertrees were compared with the reference tree (Table III.3).

Regarding the SH-test, PST based supertrees yielded by the MSS, Avcon, MMC, and Sfit algorithms are significantly different ($P < 0.05$) from the supermatrix (Table III.3), whereas none of the other supertrees are refuted (Table III.3; Figure III.3). The same pattern emerged with the LST-based supertrees.

Supertree of Bromeliaceae

With the information from all the comparisons, the five best performing methods were identified, as follows: Minflip, MRP, PhySIC_IST, RF-ST, and Superfine. Thus, these methods were employed to perform supertree analyses with the 26, 23, 18, and 10 published phylogenies for the Bromeliaceae. With minimum overlap of 2, 6, 12, and 24 taxa, respectively. It is not feasible to speak of percentages because these phylogenies share less than 05% of the taxa (< 35 taxa from a total of 698; Figure III.2).

Upon execution of analyses with the 26 phylogenies, only two algorithms performed properly, namely, MRP and Minflip. All other methods featured a variety of misperformances: PhySIC_IST was unable to harmonize branch lengths; RF-ST presented a segmentation error, whereas SuperFine failed due to insufficient taxa overlap. When the same analysis was performed with 23 and 18 phylogenies, the Minflip, MRP, and SuperFine algorithms completed the analyses and yielded an output supertree whereas other algorithms failed to do it due to intrinsic algorithmic limitations. The 10-phylogeny analysis was successfully performed and completed by all five selected methods.

The output supertrees displayed little resolution; the NPM values indicate topological agreement (values > 0.5 ; Table III.5) with the source trees. However, it became obvious that topological correspondence and coherence with the current knowledge of Bromeliaceae was greatly improved as taxon overlap between source trees increased.

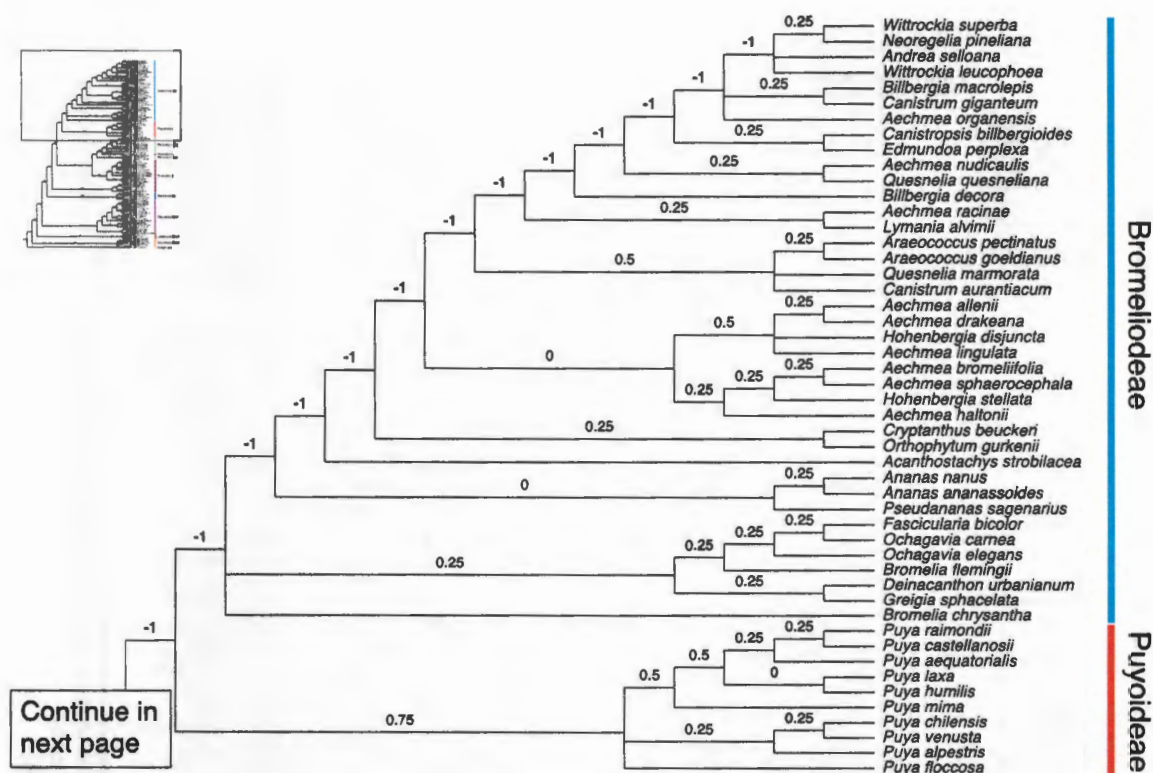


Figure III.4. (Part I) Bromeliaceae supertree constructed with SuperFine based on LST. Numbers above branches indicate rQS values; vertical lines the subfamilies.

DISCUSSION

Evaluation of the supertree methods

a. Performance for desirable properties

The performance of supertree building methods should meet a series of properties proposed by Steel *et al.* (2000) and Wilkinson *et al.* (2007, 2004) in a mathematical and practical context, respectively. Overall, these properties specify that (i) the taxa in the output supertree should be equal to those found in all source trees, (ii) that there should be a phylogenetic agreement between the relationships featured in the output supertree and the original source trees. Furthermore, (iii) whenever there are scaffold source trees, the resulting supertree should display their structure and (iv) the supertree method should be applicable to any set of source trees, regardless of the order they are fed into the algorithm.

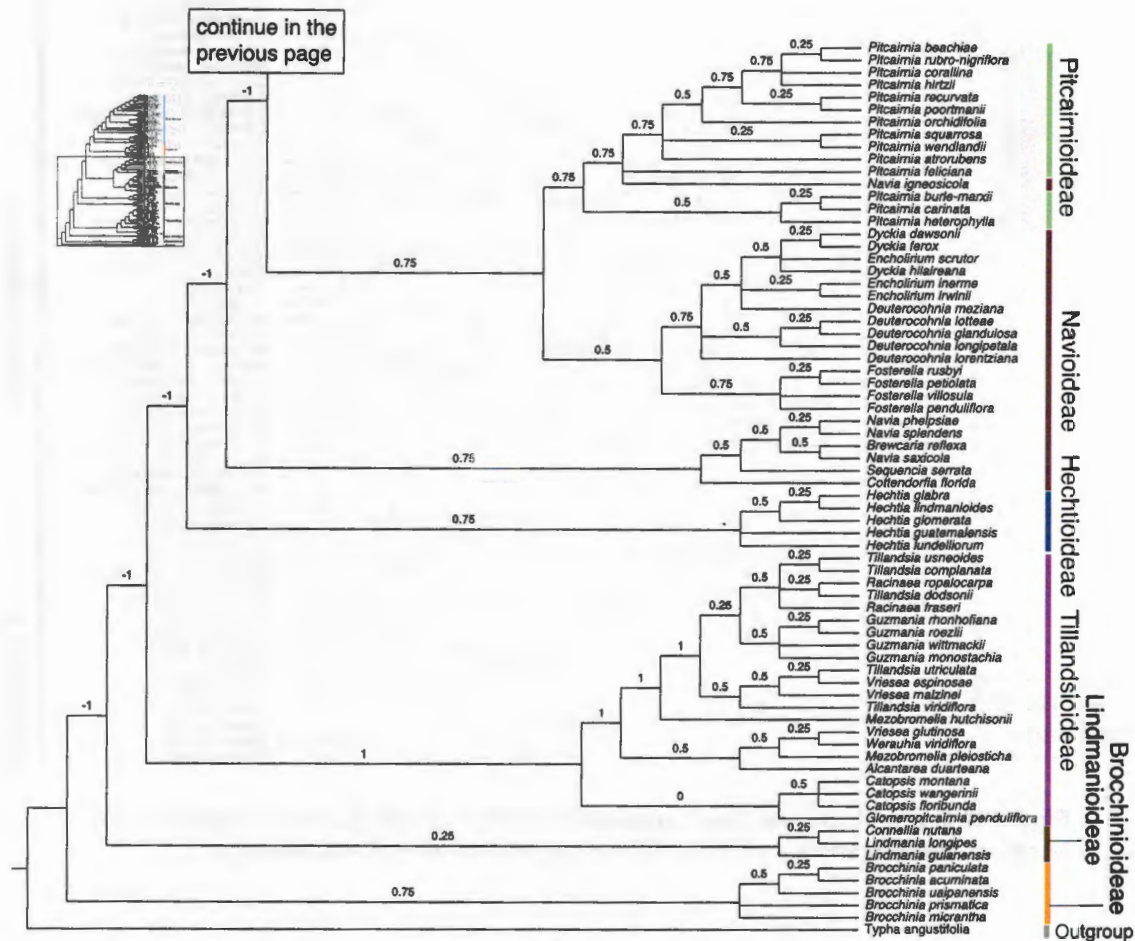


Figure III.5. (Part II) Bromeliaceae supertree constructed with SuperFine based on LST. Numbers above branches indicate rQS values; vertical lines the subfamilies.

Although our primary objective was not to assess whether Steel *et al.* (2000) and Wilkinson *et al.* (2007, 2004) desirable properties are met by the supertree algorithms, it is noteworthy that PhySIC_IST is the only method that produced a supertree composed of a subset of taxa not equaling to those of the source trees. Therefore, it was difficult to compare this particular method with the others analyzed here, and with the source trees. PhySIC_IST, however, is useful to define taxa in unstable positions. In general, MSS, Avcon, and Sfit performed poorly as they were unable to produce the general topology of the scaffold trees (i.e. Givnish *et al.*, 2011), did not show the topology of the common clades (see rQS values in Table III.4), running time for the algorithms was the longest, and were the only algorithms affected in an important way by the order in which the source trees were entered into the program (see PDCI in Table III.3).

Table III.5. Values of Consensus Fork Index (CFI), and Normalized Partition Metric Index (PM) for the resulting supertrees built with 26, 23, 18, and 10 phylogenies of Bromeliaceae.

Supertree method	With 26 source trees					With 23 source trees				
	CFI	PM	rQS values [‡]			CFI	PM	rQS values		
			H	Hm	E			H	Hm	E
Minflip	0.86	0.48	1260	2028	12442	0.87	0.12	1043	1795	10387
MRP	0.85	0.3	1290	823	13357	0.96	0.07	1570	984	11936
Superfine	–	–	–	–	–	0.92	0.08	1657	969	11220
PhySIC_IST	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
RF-ST	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Supertree method	With 18 source trees					With 10 source trees				
	CFI	PM	rQS values			CFI	PM	rQS values		
			H	Hm	E			H	Hm	E
Minflip	0.90	0.44	857	1358	7073	0.89	0.26	527	524	2109
MRP	0.95	0.29	1149	689	8026	0.67	0.21	459	152	1759
Superfine	0.90	0.28	1160	786	7361	0.90	0.38	20	0	0
PhySIC_IST	–	–	–	–	–	0	0.23	713	180	2357
RF-ST	–	–	–	–	–	0.93	0.26	527	524	2109

[‡] rQS values: H, Hardmatch; Hm, Hardmismatch; E, equivocal; –, no data.

To assess whether the order in which the source trees were entered into the algorithms affected the output supertrees, the LST were ordered from largest to smallest; then, supertrees were estimated using all methods. Afterwards, the LST were ordered from smallest to largest and the process was repeated. Resulting supertrees were compared with the PDC. The expectation is that if the order of entrance had no effect on the performance of the algorithm, the resulting supertrees should have a PDC approaching to 1; since almost all methods have a heuristic component, PDC values do not necessarily need to be 1. The rest of the methods evaluated in this study fit the properties mentioned earlier.

b. Which method generated the most reliable supertree?

Supertree methods were evaluated both under conditions of high levels of overlap (> 60% of the taxa in the PST-based supertree) and low overlap (10-15% in the LST based supertree). Beyond differences in overlap, each set of source trees features intrinsic differences in other factors, such as the average degree of resolution as well as the degree of topological congruence. In the PST set of trees, the biggest challenge was the inclusion of a tree with a large topological incongruence (*rpl32-trnL* tree). On the other hand, for the LST set of trees, the major challenge was the low degree of overlap. Several authors (Wilkinson *et al.*, 2005; Bininda-Emonds and Sanderson, 2001) have stated that both variables can affect the performance of supertree methods. Working under both environments, in this study all methods performed in a similar manner: Avcon, MSS, and Sfit consistently performed worse than the rest, which in general behaved appropriately, SuperFine being the best performer (Table III.3; Figures III.3–III.4).

The poor performance of Avcon, MSS, and Sfit could possibly be explained by the presence of metaphyletic clades in many of the source trees and the topologies of unique taxa in a source tree. Taking into account that these methods are distance based (Avcon, MSS; Creevey and McInerney, 2005; Lapointe and Levasseur, 2004) or quartet based (Creevey and McInerney, 2005), and since both variables (taxonomic overlap and topological resolution) are sources of ambiguity in the resulting supertrees (Sanderson *et al.*, 1998), it is likely that many taxa show a tendency to approach the same values in the distance matrices or else integrate set of quartets with extremely similar probabilities, thus resulting in the observed poor performance of these methods. The rest of the methods were also affected by topological incongruence, although to a lesser degree, thus explaining the high amount of negative rQS values.

In contrast, SuperFine is apparently insensitive to topological incongruence, at least at the levels included in the PST set of trees (one out of seven source trees); this method also performed well with low degrees of overlap (based on LST). In fact, this supertree method

yielded the relationship hypothesis that better resembles the primary data (Figures III.3–III.4). SuperFine works in two stages: in the first step, it produces an initial, incompletely resolved, supertree, using an existing method called the Strict Consensus Merger (SCM; Huson *et al.*, 1999), an extension of the strict consensus tree method of Day (1985), applied to two trees at a time until all the trees are merged into a single tree. The second step refines the SCM tree using the base supertree method (which in this study was MRP) and the input source trees (Swenson *et al.*, 2012). It is likely that this combination of steps makes this method more robust than other methods based only upon matrices or in the direct analysis of the topology of source trees. Swenson *et al.* (2012) indicate that SuperFine is a method that generates certainty, a hypothesis that is supported by the findings of this study.

Supertree of Bromeliaceae

When an ideal supertree is the goal, the selection of an appropriate method and the quality of the source trees (number and size of the source trees, and the degree of overlap among them) are critical, as these variable may affect the results of a supertree analysis (Buerki *et al.*, 2011; Wilkinson *et al.*, 2007, 2004; Salamin *et al.*, 2002; Bininda-Emonds and Sanderson, 2001). Our results support these observations, because the quality of the source trees and their overlap strongly affected the supertree construction when all the available phylogenies for Bromeliaceae were employed.

Integrating the 26 published phylogenies for the Bromeliaceae in a single and more inclusive phylogenetic hypothesis using the best performing methods (Minflip, MRP, PhySIC_IST, RF-ST, and SuperFine; see previous section) was not entirely successful. This is evident by the poor agreement between the supertrees obtained and the current understanding of relationships within the family. This outcome may be the result of the quality of the data used for the analysis, especially by the little overlap among source trees.

In order to obtain a more inclusive and reliable phylogeny of the Bromeliaceae, the minimum number of shared taxa among phylogenies was changed progressively to be stricter in the selection of source trees, from 2 to 24 taxa (Figure III.2). However, this number of taxa was always lower than 2% of the total taxa involved. The results suggest a clear pattern in the supertree methods, that is, as the overlap increases among the source trees, the output supertrees can reflect better the relationships expressed in the source trees, as reported by previous authors (Buerki *et al.*, 2011; Bininda-Emonds *et al.*, 2003, 2002; Bininda-Emonds and Sanderson, 2001).

Supertrees estimated from phylogenies with a minimum of two shared taxa (26 phylogenies, 698 taxa) lacked phylogenetic agreement with the source trees and with the current knowledge regarding relationships in the Bromeliaceae (compare the supertree found in this study,

with those of Gomes da Silva *et al.*, 2012; Versieux *et al.*, 2012; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Pinzón *et al.*, 2011; Chew *et al.*, 2010; Gonsiska, 2010; Jabaily and Sytsma, 2010; Matallana, 2010; Sass and Specht, 2010; Rex *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2009; Schulte *et al.*, 2009, 2005; Granados, 2008; Hornung-Leoni and Sosa, 2008; Schulte and Zizka, 2008; Horres *et al.*, 2007, 2000; Sousa *et al.*, 2007; Barfuss *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004; Faria *et al.*, 2004; Forzza, 2001; Terry *et al.*, 1997; Ranker *et al.*, 1990). This result was unexpected: in the past, it was suggested that the source trees share at least two taxa for the implementation of supertree methods (Bininda-Emonds *et al.*, 2002; Sanderson *et al.*, 1998; Gordon, 1986). In fact, if there are two source trees (say A and B) not sharing any taxon, they can not be combined; however, if there is a third source tree (C), that share taxa with both A and B trees, then the source tree C can be the bridge between A and B, and they can be combined even if the original two source trees (A and B) do not share a common taxon (Creevey and McInerney, 2009). Nonetheless, our analyses indicate that, for the Bromeliaceae, many more than two effectively overlapped taxa are required for an accurate representation of intrafamily relationships. When the supertree analysis was performed with 23 phylogenies (86 taxa shared/656 taxa), 18 phylogenies (12 taxa shared/574 taxa), and 10 phylogenies (24 shared taxa /351 taxa) the results were similar to those obtained in the analysis with 26 phylogenies, however, it was also clear that with the improvement of the overlapping, the accuracy was also better (see Table III.5).

Implications of these results on the systematics of Bromeliaceae

Employing supertree methods, this study was able to generate a phylogeny of Bromeliaceae with the broadest sampling of the family to date (Figure III.4), albeit it was only possible to integrate 4 of 26 available phylogenies in a hypothesis of relationships congruent with current knowledge of the family. In the pursuit of our goals processing the available data, it became evident that the subfamilies of Bromeliaceae with the poorest representation in phylogenies are Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae, and Navioideae. Most of these subfamilies are actually poorly known taxonomically and are difficult to sample and study because of the inaccessibility of their habitats or because they are difficult to cultivate, thus being generally absent from herbarium or horticultural collections.

It also became evident that there is much remaining taxonomic and phylogenetic work to be done in the Bromeliaceae: of 58 genera currently recognized in the Bromeliaceae (Luther, 2012) only 14 (*Brocchinia* Schult. f., *Alcantarea* Harms, *Catopsis* Griseb., *Glomeropitcairnia* Mez, *Guzmania* Ruiz & Pav., *Werauhia* J. R. Grant, *Hechtia* Klotzsch, *Steyerbromelia* L. B. Sm., *Fosterella* L. B. Sm., *Puya* Molina, *Ananas* Mill., *Araeococcus* Brongn., *Bromelia* L., and *Acanthostachys* Link, Klotzsch & Otto) are monophyletic. Most of these 14 genera are morphologically distinctive and include relatively few species, suggesting rampant evolutionary

convergence in the largest genera (i.e., *Aechmea* Ruiz & Pav., *Tillandsia* L., etc.) and across the family, as well as a taxonomic decisions based on a few, highly homoplastic characters.

It is also important to notice the degree of fragmentation of the information available for the family. Figure III.2 clearly shows that the subfamilies with the most published phylogenies are the Tillandsioideae (8 out of 26 phylogenies) and Bromelioideae. The phylogenies published for Tillandsioideae are those with the most scattered and less connected sampling (throughout the subfamily); most of these publications analyze date of small clades (i.e. Gomes da Silva *et al.*, 2012; Pinzón *et al.*, 2011; Chew *et al.*, 2010), thus featuring very little overlap among them (fewer than 12 taxa in common, mostly outgroups).

The available phylogenies of the Bromelioideae are the best connected (most share > 30 taxa), possibly because these articles have been published by the same research group (i.e. Schulte *et al.*, 2009, 2005; Schulte and Zizka, 2008). However, there are also Bromelioideae phylogenies dealing with small, isolated taxonomic groups (i.e. Sass and Specht, 2010; Sousa *et al.*, 2007; Faria *et al.*, 2004), and here connectivity is as in the Tillandsioideae.

CONCLUSIONS

According to Wilkinson *et al.* (2004) and Ranwez *et al.* (2007) some of the major applications of supertree methods are: (i) provide an integral framework for comparative studies, (ii) evaluate the congruence and overlap of source trees, (iii) reveal the conflicts due to unstable taxa, and (d) to identify sampling priorities for future studies.

In the course of this study, it was found that (i) PhySIC_IST is a good method to evaluate the congruence of source trees, as well as to identify unstable taxa. (ii) Five of the supertree methods evaluated in this study (MRP, MMC, SuperFine, PhySIC_IST, MinFlip) meet most of the desirable properties of Steel *et al.* (2000) and Wilkinson *et al.* (2007, 2004) and yield output supertrees that highly agree with the information of the source trees. Of these five methods, based on the SH test, PDC, NPM and rQS values, SuperFine generated the most reliable supertree. (iii) Taxonomic overlap among source trees was identified as the most important factor affecting the integration of the 26 phylogenies of the Bromeliaceae into a meaningful supertree. (iv) Bromeliad subfamilies Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae, and Navioideae have been sampled the least within the family. (v) The degree of fragmentation of the phylogenetic information for the Bromeliaceae is high; due to this it was only possible to produce a meaningful supertree with 120 species (3.58% of 3346 species) out of ca. 700 species (20.92% of 3346 total species in the family) included among all 26 Bromeliaceae published phylogenies.

Research groups working on different subfamilies of the Bromeliaceae should combine their research efforts with a common goal (to combine all the available phylogenetic information). Currently, there are ca. 700 bromeliad species (20.92% of ca. 3346 spp.) included in one or more phylogenies, but only 120 species (3.58% of the family total) could be integrated into a meaningful supertree, the one here presented (Figure III.4).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Michael H. J. Barfuss (University of Vienna), Tania Chew (Instituto de Ecología, A.C.), and Claudia T. Hornung-Leoni (Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo) who kindly provided us with their published phylogenies on diverse Bromeliaceae groups in newick format. We also thank Steve Wen-Chieh (National Chiao-Tung University) and Chen Duhong (Iowa State University) for updating the heuristic minflip supertree method for compilation in UNIX based operating systems. To Gustavo A. Romero-González (AMES) for comments on the first draft of this manuscript. Special thanks to Sven Buerki (Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew) and an anonymous reviewer for their valuable comments on the first version of this paper, which greatly improved its quality. The senior author thanks CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México) for scholarship No. 200523 and for funding an internship at the Harvard University Herbaria and the Missouri Botanical Garden in June 2012. Thanks to the staff of GH and the Botany Libraries of Harvard University for all the support provided during her visit. This manuscript is a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Philosophy for Jeanett Escobedo-Sarti.

BIBLIOGRAPHY

- Almeida, R., A. Ferreira, A. Mantovani, V. Gonzalves-Esteves, R. de Oliveira and R. Cam-
postrini (2009). Morphological phylogenetics of *Quesnelia* (Bromeliaceae, Brome-
lioideae). *Systematic Botany*, 34: 660–672.
- APG II (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders
and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141:
399–436.
- Baker, W., V. Savolainen, C. Asmussen-Lange, M. Chase, J. Dransfield, F. Forest, M. Harley,
N. Uhl and M. Wilkinson (2009). Complete generic level phylogenetic analyses of palms
(Arecaceae) with comparisons of supertree and supermatrix approaches. *Systematic
Biology*, 58: 240–256.

- Bansal, M., J. Burleigh, O. Eulenstein and D. Fernández-Baca (2010). Robinson-Foulds Supertrees. *Algorithms for Molecular Biology*, 5: 18.
- Barfuss, M., R. Samuel, W. Till and F. Stuessy (2005). Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany*, 92: 337–351.
- Baum, B. (1992). Combining trees as a way of combining datasets for phylogenetic inference, and the desirability of combining gene trees. *Taxon*, 41: 3–10.
- Benson, D. A., M. Cavanaugh, K. Clark, I. Karsch-Mizrachi, D. J. Lipman, J. Ostell and E. W. Sayers (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41: D36–D42.
- Bininda-Emonds, O. (2003). Novel versus unsupported clades: assessing the qualitative support for clades in MRP supertrees. *Systematic Biology*, 52: 839–848.
- Bininda-Emonds, O. (2004). New uses for old phylogenies. In O. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 3–14. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Bininda-Emonds, O. (2011a). Partition Metric v.1.2.1. [Online] (Actualized February 10, 2011). Available in <http://www.molekularesystematik.uni-oldenburg.de/33997.html> [Accessed November 5, 2011].
- Bininda-Emonds, O. (2011b). QualiTree v.1.2.1. [Online] (Actualized February 10, 2011). Available in <http://www.molekularesystematik.uni-oldenburg.de/33997.html> [Accessed November 5, 2011].
- Bininda-Emonds, O. (2011c). SuperMRP.pl 1.2.1. [Online] (Actualized February 10, 2011). Available in <http://www.molekularesystematik.uni-oldenburg.de/33997.html> [Accessed November 5, 2011].
- Bininda-Emonds, O., J. Gittleman and M. Steel (2002). The (Super)Tree of Life: Procedures, Problems, and Prospects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 265–289.
- Bininda-Emonds, O., E. Jones, S. Price, R. Grenyer, M. Cardillo, M. Habib, A. Purvis and J. Gittleman (2003). Supertrees Are a Necessary Not-So-Evil: A Comment on Gatesy et al. *Systematic Biology*, 52: 724–729.
- Bininda-Emonds, O. and M. Sanderson (2001). Assessment of the accuracy of matrix representation with parsimony analysis supertree construction. *Systematic Biology*, 50: 565–579.

- Bordewich, M., G. Evans and C. Semple (2006). Extending the Limits of Supertree Methods. *Annals of Combinatorics*, 10: 31–51.
- Boyle, B., N. Hopkins, Z. Lu, G. Raygoza, D. Mozzherin, T. Rees, N. Matasci, M. Narro, H. Piel, S. McKay, S. Lowry, C. Freeland, R. Peet and B. Enquist (2013). The taxonomic name resolution service: an online tool for automated standardization of plant names. *BMC Bioinformatics*, 14: 16.
- Buerki, S., F. Forest, N. Salamin and N. Alvarez (2011). Comparative Performance of Supertree Algorithms in Large Data Sets Using the Soapberry Family (Sapindaceae) as a Case Study. *Systematic Biology*, 60: 32–44.
- Chen, D., O. Eulenstein and D. Fernández-Baca (2004). Rainbow: a toolbox for phylogenetic supertree construction and analysis. *Bioinformatics*, 20: 2872–2873.
- Chew, T., D. L. E. and D. González (2010). Phylogenetic relationships of the pseudobulbous *Tillandsia* species (Bromeliaceae) inferred from cladistic analyses of ITS2, 5.8S ribosomal RNA gene, and ETS sequences. *Systematic Botany*, 35: 86–95.
- Colles, D. (1980). Congruence between morphometric and allozyme data for *Menidia* species: a reappraisal. *Systematic Zoology*, 29: 288–299.
- Crayn, D., K. Winter and J. Smith (2004). Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology*, 101: 3703–3708.
- Creevey, C. and J. McInerney (2005). Clann: investigating phylogenetic information through supertree analyses. *Bioinformatics*, 21: 390–392.
- Creevey, C. and J. McInerney (2009). Trees from Trees: Construction of Phylogenetic Supertrees Using Clann. In D. Posada (ed.) *Bioinformatics for DNA Sequences Analysis*, pp. 139–161. Humana Press, New York, U.S.A.
- Darriba, D., G. Taboada, R. Doallo and D. Posada (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- Davis, K. and J. Hill (2010). The Supertree Tool Kit. *BMC Research Notes*, 3: 95.
- Day, W. (1985). Optimal algorithms for comparing trees with labeled leaves. *Journal of Classification*, 2: 7–28.
- Edgar, R. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32: 1792–1797.

- Eulenstein, O., D. Chen, B. Gordon, D. Fernández-Baca and M. Sanderson (2004). Performance of flip supertree construction with a heuristic algorithm. *Systematic Biology*, 53: 299–308.
- Faria, G., T. Wendt and G. Brown (2004). Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) and allied genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 91: 303–319.
- Forzza, C. (2001). *Filogenia da Tribo Puyeeae Wittm. e Revisão Taxonômica do Gênero Encholirium Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. 210 p.
- Gatesy, J., R. Baker and C. Hayashi (2004). Inconsistencies in arguments for the supertree approach: supermatrices versus supertrees of Crocodylia. *Systematic Biology*, 53: 342–355.
- Givnish, T., M. Barfuss, B. Van Ee, R. Riina, K. Schulte, R. Horres, P. Gonsiska, R. Jabaily, D. Crayn, J. Smith, K. Winter, G. Brown, T. Evans, B. Holst, H. Luther, W. Till, G. Zizka, P. Berry and K. Sytsma (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98: 1–24.
- Givnish, T., K. Millam, P. Berry and K. Sytsma (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso*, 23: 3–26.
- Gomes da Silva, J., V. Costa, R. Oliveira and A. Costa (2012). A morphological cladistic analysis of the *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae), with anatomical descriptions: new evidence of the non-monophyly of the genus. *Systematic Botany*, 37: 641–654.
- Gonsiska, P. (2010). *Aspects of the Evolutionary Ecology of the Genus Catopsis (Bromeliaceae)*. Ph.D. thesis, University of Wisconsin-Madison, Wisconsin, U.S.A. 100 p.
- Gordon, A. (1986). Consensus supertrees: the synthesis of rooted trees containing overlapping sets of labeled leaves. *Journal of Classification*, 3: 31–39.
- Granados, C. (2008). *Sistemática del Complejo Tillandsia macdougallii (Bromeliaceae)*. Master's thesis, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 75 p.
- Hillis, D., T. Heath and K. S. John (2005). Analysis and Visualization of Tree Space. *Systematic Biology*, 54: 471–482.

- Hornung-Leoni, C. and V. Sosa (2008). Morphological phylogenetics of *Puya* subgenus *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156: 93–110.
- Horres, R., G. Kahl and K. Weising (2000). Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from *trnL* (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology*, 2: 306–315.
- Horres, R., K. Schulte, K. Weising and G. Zizka (2007). Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae)-evidence from molecular and anatomical studies. *Aliso*, 23: 27–43.
- Huson, D., S. Nettles and T. Warnow (1999). Disk-covering, a fast converging method for phylogenetic tree construction. *Journal of Computational Biology*, 6: 369–386.
- Jabaily, R. and K. Sytsma (2010). Phylogenetics of *Puya* (Bromeliaceae): placement, major lineages, and evolution of Chilean species. *American Journal of Botany*, 97: 337–356.
- Kennedy, M. and R. Page (2002). Seabird supertrees: combining partial estimates of procellariiform phylogeny. *The Auk*, 119: 88–108.
- Landry, P., F. Lapointe and J. Kirsch (1996). Estimating phylogenies from lacunose distance matrices: additive is superior to ultrametric estimation. *Molecular Biology and Evolution*, 13: 818–823.
- Lapointe, F. and G. Cucumel (1997). The average consensus procedure: combination of weighted trees containing identical or overlapping sets of taxa. *Systematic Biology*, 46: 306–312.
- Lapointe, F. and C. Levasseur (2004). Everything you always wanted to know about average consensus, and more. In O. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 87–105. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Levasseur, C. and F. Lapointe (2001). War and peace in phylogenetics: a rejoinder on total evidence and consensus. *Systematic Biology*, 50: 881–891.
- Levasseur, C. and F. Lapointe (2006). Total Evidence, Average Consensus and Matrix Representation with Parsimony: What a Difference Distances Make. *Evolutionary Bioinformatics*, 2: 1–5.
- Luther, H. (2012). *An Alphabetical List of Bromeliad Binomials*. Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International, Sarasota, USA, 44 p.

- Maddison, W. and D. Maddison (2007). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. [Online] (Actualized Septembre 30, 2011). Available in <http://mesquiteproject.org>. [Accessed Jun 20, 2012].
- Matallana, T. (2010). *Sistemas Reproductivos, Ecologia da Polinização e Hibridização em Bromeliaceae numa perspectiva local à evolutiva*. Ph.D. thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 197 p.
- Mez, C. (1896). Bromeliacées. *Monographiae Phanerogamarum*, 9: 1–951.
- Müller, K. (2004). PRAP - calculation of Bremer support for large data sets. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 780–782.
- Nixon, K. (1999). The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics*, 15: 407–414.
- Page, R. (2002). Modified Mincut Supertrees. *Lecture Notes in Computer Science*, 2452: 537–551.
- Pinzón, J., I. Ramírez and G. Carnevali (2011). Morphometric analyses within the *Tillandsia utriculata* L. complex (Bromeliaceae) allow for the recognition of a new species, with notes on its phylogenetic position. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 138: 353–365.
- Price, S., O. Bininda-Emonds and J. Gittleman (2005). A complete phylogeny of the whales, dolphins and even-toed hoofed mammals (Cetartiodactyla). *Biological Reviews*, 80: 445–473.
- Purvis, A. (1995). A modification to Baum and Ragan's method for combining phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 44: 251–255.
- R Core Team (2012). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ragan, M. (1992). Phylogenetic inference based on matrix representation of trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1: 53–58.
- Ranker, T., D. Soltis, P. Soltis and A. Gilmartin (1990). Subfamilial phylogenetic relationships of the Bromeliaceae: evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Systematic Botany*, 15: 425–434.
- Ranwez, V., V. Berry, A. Criscuolo, P. Henri, S. Guillemot, C. Scornavacca and E. Douzery (2007). PhySIC: a veto supertree method with desirable properties. *Systematic Biology*, 56: 798–817.

- Rex, M., K. Schulte, G. Zizka, J. Peters, R. Vásquez, P. Ibach and K. Weising (2009). Phylogenetic analysis of *Fosterella* L. B. Sm. (Pitcairnioideae, Bromeliaceae) based on four chloroplast DNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51: 472–485.
- Rodrigo, A. (1993). A comment on Baum's method for combining phylogenetic trees. *Taxon*, 42: 631–636.
- Rodrigo, A. (1996). On combining Cladograms. *Taxon*, 45: 267–274.
- Salamin, N., T. Hodkinson and V. Savolainen (2002). Building supertree: an empirical assessment using the grass family (Poaceae). *Systematic Biology*, 51: 136–150.
- Sanderson, M., A. Purvis and C. Henze (1998). Phylogenetic supertrees: assembling the trees of life. *Trends in Ecology & Evolution*, 13: 105–109.
- Sass, C. and C. Specht (2010). Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 559–571.
- Schliep, K. (2011). Phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics*, 27: 592–593.
- Schulte, K., M. Barfuss and G. Zizka (2009). Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51: 327–339.
- Schulte, K., R. Horres and G. Zizka (2005). Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). *Senckenbergiana Biology*, 85: 113–125.
- Schulte, K. and G. Zizka (2008). Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. *Candollea*, 63: 209–255.
- Scornavacca, C., V. Berry, V. Lefort, E. Douzery and V. Ranwez (2008). PhySIC_IST: cleaning source trees to infer more informative supertrees. *BMC Bioinformatics*, 9: 413.
- Shimodaira, H. and M. Hasegawa (1999). Multiple Comparisons of Log-Likelihoods with Applications to Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1114–1116.
- Smith, L. and R. Downs (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 1–662.

- Smith, L. and R. Downs (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 663–1492.
- Smith, L. and R. Downs (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 1493–2142.
- Smith, L. and W. Till (1998). Bromeliaceae. In K. Kubitzki (ed.) *The Families and Genera of Vascular Plants IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*, pp. 74–99. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Sousa, L., T. Wendt, G. Brown, D. Tuthill and T. Evans (2007). Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. *Systematic Botany*, 32: 264–270.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688–2690.
- Steel, M., A. Dress and S. Böcker (2000). Simple but fundamental limitations on supertree and consensus tree methods. *Systematic Biology*, 49: 363–368.
- Sukumaran, J. and M. Holder (2010). Dendropy: a Python library for phylogenetic computing. *Bioinformatics*, 26: 1569–1571.
- Swenson, M., F. Barbançon, T. Warnow and R. C. (2010). A simulation study comparing supertree and combined analysis methods using SMIDGen. *Algorithms for Molecular Biology*, 5: 8.
- Swenson, M., R. Suri, C. Linder and T. Warnow (2012). SuperFine: fast and accurate supertree estimation. *Systematic Biology*, 61: 214–227.
- Swofford, D. (2002). *PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods). Version 4*. Sinauer, Sunderland, U.S.A.
- Terry, R., G. Brown and R. Olmstead (1997). Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany*, 84: 664–670.
- Versieux, L., T. Barbará, L. Gracas, A. Calvente, F. Michael and C. Lexer (2012). Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (*Alcantarea*, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 177–189.
- Wilkinson, M., J. Cotton, C. Creevey, O. Eulenstein, S. Harris, F. Lapointe, C. Levasseur, J. Mcinerney, D. Pisani and J. Thorley (2005). The Shape of Supertrees to Come: Tree

- Shape Related Properties of Fourteen Supertree Methods. *Systematic Biology*, 54: 419–431.
- Wilkinson, M., J. Cotton, F. Lapointe and D. Pisani (2007). Properties of Supertree Methods in the Consensus Setting. *Systematic Biology*, 56: 330–337.
- Wilkinson, M., J. Thorley, D. Pisani, F. Lapointe and J. McInerney (2004). Some desiderata for liberal supertree. In O. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 227–246. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Zwickl, D. (2006). *Genetic Algorithm Approaches for the Phylogenetic Analysis of Large Biological Sequence Datasets Under the Maximum Likelihood Criterion*. Ph.D. thesis, The University of Texas, Austin, Texas. 115 p.

EVOLUCIÓN DE CARACTERES DE HISTORIA DE VIDA Y TASAS DE DIVERSIFICACIÓN DE LA FAMILIA BROMELIACEAE

RESUMEN

El superárbol de la familia Bromeliaceae construido con el método de SuperFine, se utilizó como marco filogenético para estudiar la evolución del habito, la ruta fotosintética, el sistema sexual, los síndromes de polinización y el síndrome de dispersión de semillas presentes en las Bromeliaceae. Para cada carácter se hizo el análisis de señal filogenética utilizando el estadístico λ de Pagel, se reconstruyeron los estados ancestrales con el modelo Mk1, y se calcularon los parámetros δ (sugiere donde se concentran los cambios) y κ (tendencia en el modelo de especiación). Posteriormente, se calcularon las tasas de diversificación para cada subfamilia. Los resultados sugieren que el habito, la ruta fotosintética y el síndrome de dispersión de semillas, han evolucionado de manera rápida, y su evolución se concentra en los nodos ancestrales de los linajes existentes. En contraste, la evolución del síndrome de polinización y sistema sexual, ha sido de manera gradual, y los cambios evolutivos probablemente han sido recientes. La tasa de diversificación para la familia Bromeliaceae es alta. La subfamilia Bromelioideae presenta la tasa de diversificación más alta ($r_{0,0} = 0.69$, $r_{0,9} = 0.50$), seguida de Pitcairnioideae ($r_{0,0} = 0.48$, $r_{0,9} = 0.34$); mientras que la tasa más baja la presenta la subfamilia Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.07$), seguida de Hechtioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$). La evolución del CAM, el habito epífita y la presencia de semillas anemocoras, zoocoras o autocoras, así como la ornitofilia, son caracteres que posiblemente han influido en la diversificación de las subfamilias.

INTRODUCCIÓN

El estudio de evolución orgánica puede realizarse a diferentes escalas, por debajo del nivel de especie (micro-evolución), o por arriba (macroevolución; Stebbins, 1974). Los estudios microevolutivos se apoyan en experimentos de laboratorio para estudiar los cambios en las poblaciones. Éstos consideran que cuatro procesos básicos pueden explicar los cambios evolutivos: mutación, selección natural, flujo génico y deriva genética. Los estudios macroevolutivos son a mayor escala y en ellos se intenta reconstruir la historia evolutiva, haciendo uso de la interpretación del registro fósil, elaborando inferencias a partir de comparaciones entre formas contemporáneas o mediante la combinación de estos dos métodos. En biología, los estudios macroevolutivos se apoyan en hipótesis filogenéticas (Stebbins, 1974).

Para explicar los patrones macroevolutivos, existen dos tendencias teóricas: el gradualismo y el equilibrio puntuado (Hernández, 1998). El gradualismo propone que los cambios evolutivos ocurren de manera lenta y constante; de acuerdo a esta teoría, la selección natural actúa por acumulación de pequeñas variaciones sucesivas y favorables (Hernández, 1998). El modelo de equilibrio puntuado sugiere que una gran parte del cambio evolutivo de los taxa tiene lugar en periodos breves, unidos a episodios de especiación (implica que la evolución sucede en rápidas explosiones). Los defensores de esta teoría sostienen que el registro fósil indica que la mayoría de los cambios evolutivos suceden en periodos relativamente cortos y rápidos (en una escala de tiempo geológico), que se intercalan con periodos largos de estasis y que de alguna manera están en equilibrio (Hernández, 1998).

Todos los eventos de la evolución biológica (transiciones entre nichos, cambios morfológicos, etc.), se pueden estudiar con apoyo de árboles filogenéticos; como consecuencia, éstos preservan huellas de los procesos histórico-evolutivos que dieron origen a la diversidad de las especies contemporáneas (Pagel, 1999a). Lo anterior plantea la posibilidad de que la combinación de un árbol filogenético y la información ecológica, morfológica, fisiológica, etc., pueda ser usada para inferir eventos de cladogénesis, para descubrir las características mas probables de las especies ancestrales, estimación de los tiempos de eventos evolutivos, entre otros estudios (Pagel, 1999a; Schluter *et al.*, 1997).

Una manera de conocer si un carácter ha evolucionado azarosamente (independiente) o está asociado a un patrón filogenético, es estimando su señal filogenética. Biológicamente, la señal filogenética se define como una consecuencia directa de la evolución de un carácter y es dependiente de los mecanismos evolutivos en acción (Paradis, 2012). De esta forma, la cantidad de cambio será proporcional al tiempo evolutivo transcurrido y, por tanto, cuanto más emparentadas estén dos taxa, menor será el tiempo desde su divergencia, y menor se espera que sea la diferencia entre los estados de carácter (Blomberg y Garland, 2002).

Existe una amplia gama de métodos para la reconstrucción de caracteres ancestrales, los cuales difieren tanto en los supuestos, como en las estrategias utilizadas para la reconstrucción, por lo que pueden generar resultados distintos (Losos, 1999). Los métodos basados en el principio de parsimonia reconstruyen los estados ancestrales de un carácter minimizando el número de cambios requeridos para producir la diversidad observada entre taxa contemporáneas, este método ha sido ampliamente utilizado en el pasado (Lewis, 2001b; Losos, 1999; Pagel, 1999a; Schluter *et al.*, 1997).

El método de parsimonia es más preciso cuando hay pocos cambios o las ramas del árbol son cortas, debido a que la probabilidad de que un carácter cambie en un rama del árbol,

no está fuertemente relacionado con su longitud (Pagel, 1999a). Sin embargo, se ha reportado que el método de parsimonia puede ser poco preciso cuando las tasas de evolución de carácter son altas y el cladograma posee algunas ramas largas. Esto sucede porque la parsimonia no toma en cuenta la longitud de ramas, por lo que tiene una tendencia a subestimar la cantidad de cambios en las mismas (Pagel, 1999a).

Una alternativa al método de parsimonia son los métodos basados en máxima verosimilitud, conocidos también como métodos probabilísticos. Estos métodos asumen que los cambios entre los estados de carácter siguen un proceso markoviano (son procesos que carecen de memoria). El modelo probabilístico MK1 asume que la probabilidad de cambio de un estado de carácter a otro, en cualquier punto a lo largo de una rama de un árbol filogenético, depende sólo del estado de carácter actual. Las letras en los modelos probabilísticos, frecuentemente los describen; así, MK1 es M=markoviano, k=número de estados observados, 1= un solo parámetro; la tasa de cambio es igual para todos los estados de carácter. Las soluciones de los modelos de máxima probabilidad pueden o no ser iguales a las más parsimoniosas (Pagel, 1999a,b); sin embargo, tienen la ventaja que toman en cuenta la longitud de las ramas en el árbol y por ende pueden ajustar el modelo a tasas de cambio bajas o altas (Schluter *et al.*, 1997). Bajo el modelo MK (o cualquier método probabilístico o de distancia); la longitud de rama es definida como el número esperado de cambios por carácter a través de la rama (Lewis, 2001a).

Se han desarrollado métodos de máxima verosimilitud para la reconstrucción de estados ancestrales en caracteres discretos y continuos (Pagel, 1999a). Estos métodos, entre otras cosas, permiten estimar parámetros para calcular la velocidad de evolución de un carácter; esto es, permiten inferir si un carácter evolucionó de manera gradual o explosivamente (Pagel, 1999a). El gradualismo directo describe características que cambian linealmente con la longitud de ramas (κ), mientras que el equilibrio puntuado describe características que cambian de manera rápida en un principio y luego permanecen estables a lo largo de la rama (δ ; Pagel, 1999a).

Estudios de evolución de caracteres de la familia Bromeliaceae

Entre los estudios de evolución de caracteres en la familia Bromeliaceae se encuentra el de Givnish *et al.* (1997), que a partir de una hipótesis construida con evidencia molecular (enzimas de restricción), estudiaron la evolución de diferentes caracteres en la subfamilia Brocchinioideae, entre ellos la evolución del tanque. Givnish *et al.* (1997) encontraron que en la subfamilia este carácter posiblemente es un innovación clave, pues una vez que se

originó el tanque, hubo una subsecuente evolución hacia la carnivoría, la mirmecofilia y el epifitismo.

Benzing (2000) modeló la evolución del tipo de fruto, proponiendo que el estado ancestral es una cápsula dehiscente, mientras que el más derivado es una baya indehiscente. Igualmente sugirió que el tipo de semilla más ancestral son las caudadas, a partir de las cuales evolucionaron las semillas sin apéndices, con algunas transiciones intermedias de semillas aladas y polimórficas (Benzing, 2000).

El origen del metabolismo ácido de crasuláceas (CAM) y el habito epífito para la familia, fueron estudiados por Crayn *et al.* (2004) y Givnish *et al.* (2007) utilizando evidencia molecular (ADN de cloroplasto). Estos autores infirieron que las primeras bromelias presentaron metabolismo C₃, y su habito era terrestre; mientras que el CAM y el habito epífito son estados derivados. Por otro lado, a nivel subfamilia, Schulte y Zizka (2008), estudiaron la evolución del CAM en Bromelioideae, con base una hipótesis filogenética construida con evidencia molecular (ADN de cloroplasto); encontraron que la fotosíntesis C₃ es un carácter plesiomórfico en la subfamilia. Recientemente, Silvestro *et al.* (2013), refieren que CAM y la presencia de tanque en la subfamilia Bromelioideae son innovaciones clave en el clado y que tienen efectos sobre las tasas de diversificación.

Granados (2008), realizó un análisis filogenético del complejo *Tillandsia macdougalli* y con evidencia molecular (*trnK-matK*, *trnH^{GUG}-psbA* y *trnD^{GUC}-trnT^{GGU}*) y morfológica. Estudió la evolución de algunos caracteres morfológicos presentes en especies de ese complejo. Por ejemplo, infirió que la inflorescencia péndula, derivó de la condición ancestral erecta; aunque con algunas evoluciones independientes en ciertos miembros. Granados (2008) interpreta además, que la presencia de brácteas florales es el estado ancestral en *Tillandsia* y que la ausencia de ellas es una condición derivada y única para las especies del complejo.

Hornung-Leoni y Sosa (2008), estudiaron la evolución de diferentes caracteres morfológicos del género *Puya* subgénero *Puya*, con base en una hipótesis filogenética construida a partir de caracteres morfológicos. Uno de los caracteres que estudiaron es la evolución del tamaño de la inflorescencia. Con base en sus resultados propusieron que a partir de especies de *Puya* con inflorescencias grandes (ca. 1 m. de longitud) como *P. chilensis* Molina, evolucionaron especies con inflorescencia gigante (3-4 m de longitud) como *P. raimondii* Harms.

Givnish *et al.* (2007) y Matallana (2010) estudiaron la evolución de los síndromes de polinización a nivel familia con apoyo en evidencia molecular (ADN de cloroplasto). Encontraron

que la entomofilia es el estado ancestral, mientras que la ornitofilia y la quiropteroofilia son estados derivados.

Matallana (2010) estudió la evolución de los sistemas de cruzamiento de la familia, con apoyo de una hipótesis filogenética construida con caracteres moleculares del cloroplasto de 85 especies (12 géneros) de Bromeliaceae. Sus resultados sugieren que a partir de ancestros con sistemas autógamos y autocompatibles evolucionaron de manera independiente especies con sistemas alógamos y autoincompatibles.

Tanto en estudios de evolución como de ecología en Bromeliaceae, se ha inferido que la presencia de algunos caracteres de historia de vida, han tenido un rol importante en su diversificación; por ejemplo: el CAM y el habito epífito, les ha permitido colonizar exitosamente ambientes áridos o semiáridos y especiar en ellos (Silvestro *et al.*, 2013; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Quezada y Gianoli, 2011; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Medina, 1974). La ornitofilia ha favorecido la invasión de rangos altitudinales medianos y altos por algunos miembros de Bromeliaceae (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000). Los sistemas sexuales hermafroditas autógamos podrían estar asociados a la diversificación ecológica de la familia (Matallana, 2010). La dispersión de semillas por viento (anemocoras), por animales (zoocoras) o tipo proyectiles o balas (autocoras), les ha permitido colonizar nuevos hábitats (Benzing, 2000).

Los estudios de evolución de caracteres que se han realizado para la familia Bromeliaceae, han contribuido a una mejor comprensión de los patrones evolutivos y las relaciones de parentesco dentro de la familia. Sin embargo, el número de taxa incluidos en las hipótesis de evolución de caracteres, hasta ahora, son pocos (en el capítulo II está la información detallada); por lo que el conocimiento y comprensión de los fenómenos evolutivos de esta familia son todavía fragmentarios. En este capítulo se propone estudiar la evolución de caracteres de historia de vida, que se han considerado claves en la diversificación de la familia (tipo de fotosíntesis, habito, sistemas sexuales, síndromes de polinización y de dispersión de semillas) e inferir si han afectado o no las tasas de diversificación a nivel subfamilia.

Objetivos

- Estudiar la evolución de caracteres de historia de vida, considerados clave en la evolución de la familia Bromeliaceae.
- Estimar las tasas de diversificación de las ocho subfamilias reconocidas para Bromeliaceae, y hacer inferencias respecto a si éstas pudieron haber sido afectadas por los caracteres de historia de vida estudiados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la hipótesis filogenética construida con el método de superárbol SuperFine (detalles en el capítulo III) y el modelo Mk1 para estudiar la evolución del habito, la ruta fotosintética, síndrome de polinización, sistemas de sexuales y tipos de síndromes de dispersión de semillas. Para establecer si los caracteres seleccionados tenían señal filogenética se utilizó el estadístico de lambda de Pagel y se calcularon los parámetros de delta (δ) y kappa (κ) para conocer la tendencia en la evolución de los caracteres. Finalmente, se calcularon las tasas de diversificación con el método de Magallón y Sanderson (2001) para la familia Bromeliaceae y las ocho subfamilias, esto con el objetivo de inferir si los caracteres estudiados están asociados a la diversificación del grupo.

Análisis filogenético

Se seleccionó el superárbol más confiable (el de SuperFine) para la familia Bromeliaceae, según los parámetros y métodos establecidos en el capítulo III. Este árbol está integrado por 120 especies de bromelias de 3346 (ca. 3.61 %) y 48 de 58 (81 %) géneros están representados en este estudio. Como grupo externo se seleccionó *Rapatea paludosa* Aubl., miembro de la familia Rapateaceae, que junto con *Typha* L. (Typhaceae) es uno de los posibles grupos hermanos de la familia Bromeliaceae (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004). Sin embargo, a diferencia de *Typha*, el género *Rapatea* Aubl. comparte con las Bromeliaceae una serie de caracteres morfológicos, tales como: endosperma farinoso, flores trímeras, con todos los verticilos usualmente representados, perianto regular o cercanamente regular, sépalos y pétalos contrastantes, ovario trilocular y placentación central (Smith, 1934); así mismo se ha inferido que ambas familias tuvieron su origen en el Escudo Guayanés, en Suramérica, y su distribución actual es neotropical, con la excepción de *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbraed (Bromeliaceae) y *Maschalocephalus dinklagei* Gilg & Schumann (Rapateaceae), que están en el oeste de África (Givnish *et al.*, 2004).

Se seleccionó el modelo Mk1 (es un modelo probabilístico) para inferir la evolución de los caracteres seleccionados. Como este modelo requiere el uso de una filogenia con longitudes de rama y la hipótesis filogenética del superárbol no tiene esa información, se procedió a calcular dichas longitudes siguiendo la metodología empleada por Jones *et al.* (2005) y Bininda-Emonds *et al.* (2007). Para ello se utilizó la supermatriz generada en el capítulo III de esta tesis, la cual se integró a partir de información de Genbank, y está constituida por 121 taxa y siete regiones de ADN; para cada región se calculó su modelo evolutivo con el programa Jmodeltest (Darriba *et al.*, 2012), las matrices se concatenaron para formar una nueva supermatriz. Posteriormente, asumiendo que la topología del superárbol es certera y

refleja las relaciones filogenéticas de las bromelias, en el programa Garli (Zwickl, 2006) se hizo el análisis indicando el modelo estimado para cada partición y manteniendo la topología fija; con esto se obtuvo un superárbol con longitudes de rama.

Selección de caracteres de historia de vida

Se hizo una revisión de literatura y se encontró que diferentes autores apoyan que el hábito epífita (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Benzing, 2000; Medina, 1974), el sistema sexual hermafrodita (Matallana, 2010), el síndrome de polinización por aves (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Matallana, 2010), el síndrome de dispersión de semillas por animales (Benzing, 2000) y la ruta fotosintética (Silvestro *et al.*, 2013; Givnish *et al.*, 2011, 2007; Quezada y Gianoli, 2011; Schulte *et al.*, 2005; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Medina, 1974), son considerados caracteres de historia de vida que podrían ser innovaciones clave para la familia Bromeliaceae.

Para conocer el hábito, el sistema sexual, el tipo de fotosíntesis, el síndrome de polinización y el mecanismo de dispersión de las semillas de cada especie representada en el superárbol de la familia Bromeliaceae, se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura disponible: tesis, claves taxonómicas, tratados taxonómicos, artículos, fotografías, dibujos e información de ejemplares de herbario. Cada carácter y sus estados, se codificaron a partir de la información obtenida como se muestra en el Cuadro IV.1. Una vez reunida la información y definidos los estados de carácter, se construyó una matriz de caracteres.

Cuadro IV.1. Caracteres y estados de carácter estudiados.

No.	Carácter	Estados
1	Hábito	Terrestre (0), rupícola (1), epífita (2)
2	Tipo de fotosíntesis	C ₃ (0), CAM (1)
3	Sistema sexual	Hermafrodita (0), dioico (1), andromonoico (2)
4	Síndrome de polinización	Entomofilia (0), ornitofilia (1), quiropterofilia (2), mixto†(3), autógeno (4)
5	Síndrome de dispersión de semillas	Semillas de alas reducidas (no vágiles; 0), semillas plumosas (vágiles; 1), semillas sin apéndices (no vágiles; 2)

† Incluye dos o tres de los síndromes de polinización.

Evolución de caracteres

Una vez que se obtuvo el superárbol con longitudes de rama y la matriz de caracteres (Anexo 1), se hizo el análisis de señal filogenética utilizando el estadístico λ de Pagel, en

el programa R (R Core Team, 2012), utilizando el módulo de Geiger (Harmon *et al.*, 2008). Esta prueba consiste en comparar el ajuste de un carácter en estudio con la topología de la filogenia utilizando el método de mínimos cuadrados generalizados. Esta prueba se hizo en tres pasos, primero se calculó la λ de Pagel con el superárbol, luego se calculó la λ de Pagel utilizando un árbol carente de señal filogenética (un árbol totalmente metafilético), a través de una prueba de χ^2 se compararon los valores obtenidos. Para que esta prueba resulte significativa (p.e., si hay señal filogenética), el valor observado de probabilidad (P) debe ser inferior a 0.05. Posteriormente, se reconstruyeron los estados ancestrales de los caracteres utilizando el módulo Ape (Paradis *et al.*, 2004) en el programa R, con el modelo Mk1.

Para conocer la tendencia en la evolución de los caracteres, se calcularon los parámetros delta (δ) y kappa (κ) empleando el método de Pagel (1999a) en el programa R, con el paquete Geiger. δ indica hacia qué parte del árbol filogenético se concentran los cambios; mientras que, κ sugiere una tendencia en el modelo de especiación (puntuado contra gradual). En este sentido, el valor de κ está entre 0 y 1. Cuando $\kappa = 1$, se interpreta como un proceso evolutivo gradual; mientras que, valores de $\kappa < 1$ sugieren cambios rápidos (evolución puntuada). δ alcanza valores entre 0 y 3. Cuando $\delta < 1$ sugiere que la evolución tiende a ser lenta (se concentra en las ramas más profundas del árbol); mientras que, si $\delta > 1$, sugiere una evolución relativamente rápida en los estados de carácter (tiende a concentrarse hacia las puntas del árbol).

Tiempos de divergencia

Las edades de divergencia de las subfamilias de Bromeliaceae (Cuadro IV.2), se obtuvieron a partir del estudio de Givnish *et al.* (2011), quienes emplearon un enfoque indirecto para calcular los tiempos de divergencia, debido a que casi todas las especies de bromelias habitan en áreas que son pobres para la preservación de fósiles (Givnish *et al.*, 2011).

Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron estimadas para la familia Bromeliaceae y las ocho subfamilias propuestas por Givnish *et al.* (2011). Para ello, se utilizó el método de Magallón y Sanderson (2001), bajo un modelo estocástico de procesos de especiación-extinción; este modelo permite la obtención de las tasas de diversificación asumiendo que no hay extinción ($\epsilon = 0.0$) y bajo una tasa relativamente alta de extinción ($\epsilon = 0.9$) empleando la fórmula IV.1, que corresponde a los grupos corona.

$$r_{\epsilon} = 1/t \{ \log [1/2n(1 - 2\epsilon) + 2\epsilon + 1/2(1 - \epsilon)\sqrt{2n\epsilon - 8\epsilon + 2n\epsilon + n}] - \log 2 \} \quad (\text{IV.1})$$

Cuadro IV.2. Tiempos de divergencia para las subfamilias de Bromeliaceae, tomados de Givnish *et al.* (2011).

Taxón	Edad del Grupo Corona (Ma [†])
Brocchinioideae	13.1
Lindmanioideae	8.9
Tillandsioideae	14.2
Hechtioideae	10.3
Navioideae	10.4
Pitcairnioideae	11.8
Puyoideae	10.0
Bromelioideae	8.9
Bromeliaceae	19.0

[†] Millones de años.

Donde: n representa a todos los miembros existentes de un clado y t es la edad del grupo corona. El número de especies de bromelias por clado se tomó de la lista de los taxones aceptados publicada por Luther (2012).

Los grupos corona representan grupos monofiléticos que incluyen a todos los miembros existentes de un clado, aunque pueden incluir linajes que están extintos al presente pero que divergieron después del ancestro común más reciente de todos los representantes existentes. La edad de este grupo corresponde al tiempo de la primera divergencia filogenética dentro del grupo corona (Magallón y Sanderson, 2001).

RESULTADOS

Evolución de caracteres

Señal filogenética: El método de Pagel sugiere que todos los caracteres de historia de vida en estudio tienen señal filogenética (Cuadro IV.3).

Cuadro IV.3. Valores de señal filogenética (λ) y de probabilidad (P).

Carácter	λ	P
Habito	1	0
Tipo de fotosíntesis	1	0
Sistema sexual	1	2.553×10^{-11}
Síndrome de polinización	1	0
Síndrome de dispersión de semillas	1	0

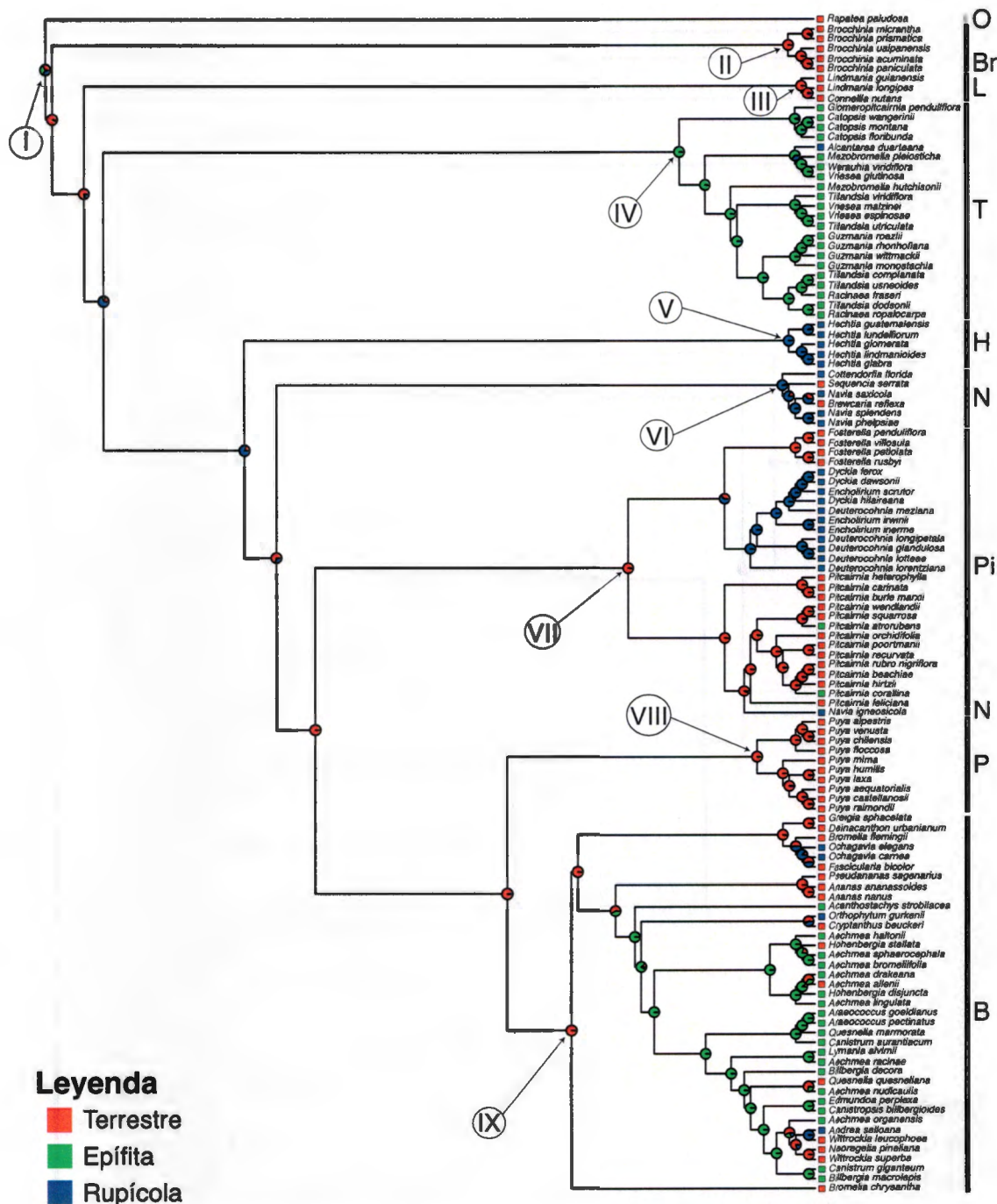
Reconstrucción de estados ancestrales de caracteres de historia de vida: El habito terrestre es inferido como el estado ancestral, mientras que el epífito ha surgido al menos 12 veces de manera independiente en la historia evolutiva de las bromelias; y el habito rupícola ha aparecido al menos siete veces de manera independiente (Figura IV.1). El CAM ha surgido de manera independiente al menos cinco veces, mientras que la fotosíntesis C_3 es el estado ancestral (Figura IV.2). En cuanto a los sistemas sexuales, se detectó que la dioecia ha surgido al menos dos veces de manera independiente en la familia, la andromonoecia surgió por lo menos una vez (Figura IV.3). Con respecto, al síndrome de polinización, destaca que la polinización por insectos surge como estado ancestral, mientras que la ornitofilia ha surgido de manera independiente al menos nueve veces en la historia evolutiva de la familia y la quiropterofilia ha surgido al menos dos veces de manera independiente (Figura IV.4). Sobre el síndrome de dispersión de semillas, las semillas de alas reducidas (no vágiles) son reconstruidas como el estado ancestral; mientras que, las semillas sin apéndices (no vágiles), surgieron al menos una vez en la historia evolutiva de la familia (Figura IV.5).

Tendencias en la evolución de caracteres de la familia Bromeliaceae: En el Cuadro IV.4 se muestra que los valores obtenidos, sugieren que el habito en las bromelias ha evolucionado de manera rápida ($\kappa = 0.014$) y su evolución se concentra en los nodos ancestrales de los linajes existentes ($\delta = 0.021$). El CAM probablemente evolucionó de manera rápida en Bromeliaceae ($\kappa = 0.667$), y su evolución se concentra en los nodos ancestrales ($\delta = 1.148$).

El sistema sexual es un carácter que ha evolucionado de manera gradual ($\kappa = 0.924$) y su evolución probablemente ha sido reciente ($\delta = 1.744$). El síndrome de polinización es un carácter que posiblemente evolucionó de manera gradual y escalada; es decir, su evolución fue no lineal a lo largo de las ramas ($\kappa = 0.109$) y su mayor tasa de cambio se concentra en los nodos más derivados, lo que sugiere evolución reciente ($\delta = 3$). El síndrome de dispersión de semillas es un carácter que ha evolucionado de manera rápida ($\kappa = 0.465$) y la mayor proporción de su cambio tiende a concentrarse en los nodos ancestrales de los linajes existentes de las bromelias ($\delta = 0.006$).

Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron obtenidas para la familia Bromeliaceae. De las ocho subfamilias reconocidas por Givnish *et al.* (2011), la tasa de diversificación más alta la presenta la subfamilia Bromelioideae, seguida de Pitcairnioideae; mientras que la tasa más baja la presenta la subfamilia Brocchinioideae, seguida de Hechtioideae (Cuadro IV.5, Figura IV.1).



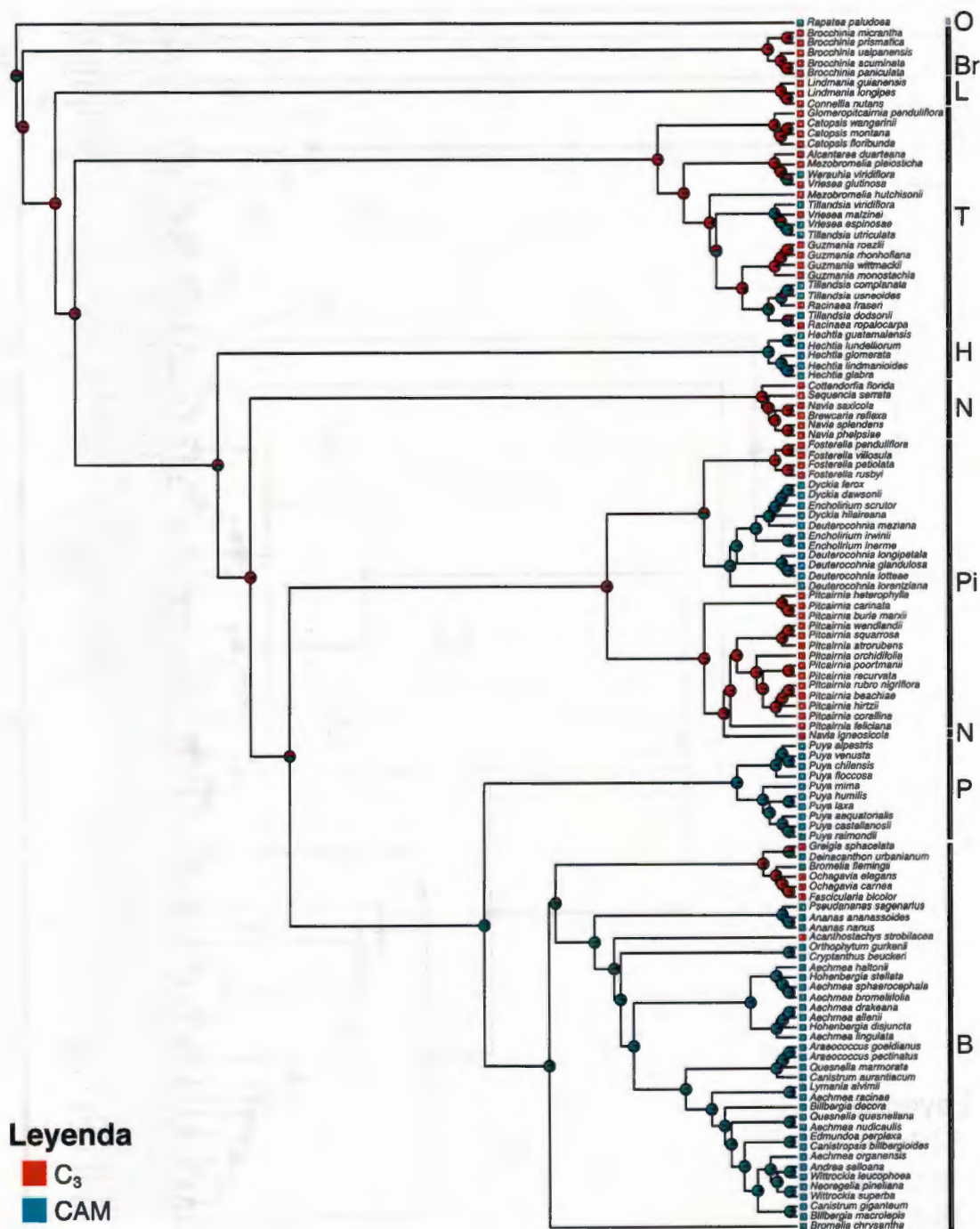


Figura IV.2. Reconstrucción de la evolución del tipo de fotosíntesis en la familia Bromeliaceae, con ML bajo el modelo Mk1. Las letras y barras verticales indican el grupo externo (O) y las subfamilias de Bromeliaceae: Brocchioideae (Br), Lindmanioidae (L), Tillandsioideae (T), Hechtioideae (H), Navioideae (N), Pitcairnioideae (Pi), Puyoideae (P) y Bromelioideae (B).

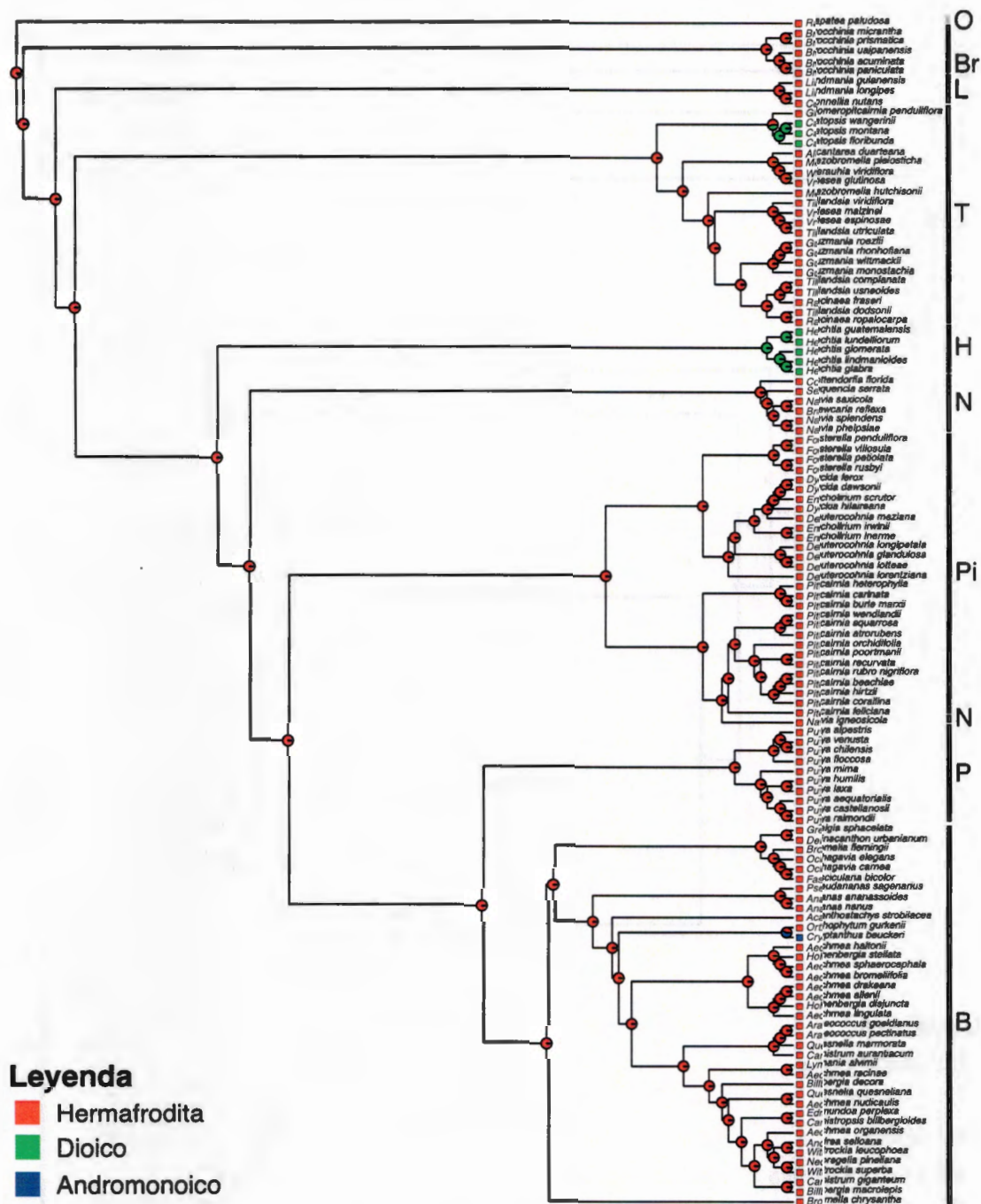


Figura IV.3. Reconstrucción de la evolución del sistema sexual en la familia Bromeliaceae, con ML bajo el modelo Mk1. Las letras y barras verticales indican el grupo externo (O) y las subfamilias de Bromeliaceae: Brocchinioideae (Br), Lindmanioideae (L), Tillandsioideae (T), Hechtioideae (H), Navioideae (N), Pitcairnioideae (Pi), Puyoideae (P) y Bromelioideae (B).

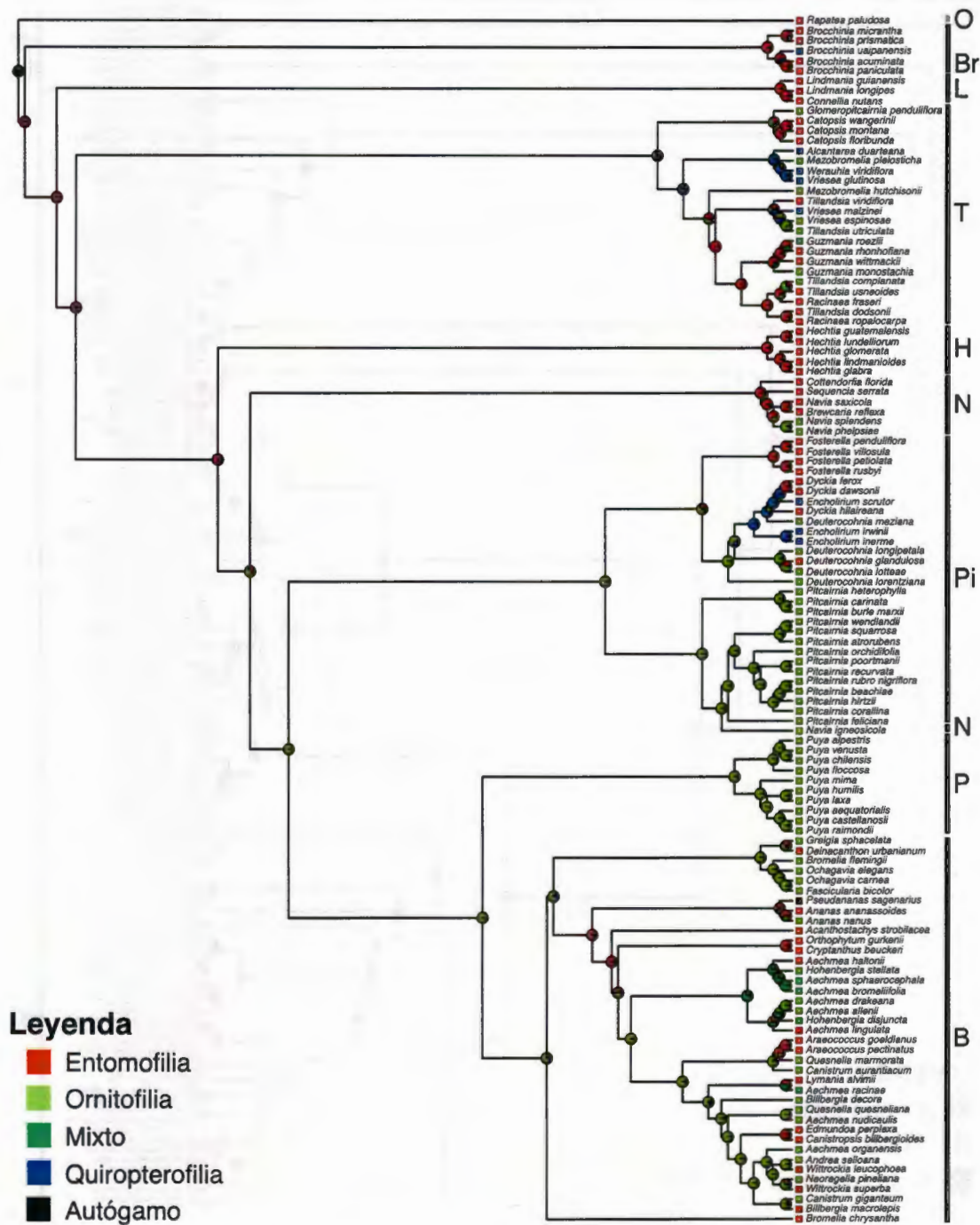


Figura IV.4. Reconstrucción de la evolución del síndrome de polinización en la familia Bromeliaceae, con ML bajo el modelo Mk1. Las letras y barras verticales indican el grupo externo (O) y las subfamilias de Bromeliaceae: Brochnioideae (Br), Lindmannioideae (L), Tillandsioideae (T), Hechtioideae (H), Navioideae (N), Pitcairnioideae (Pi), Puyoideae (P) y Bromelioideae (B).

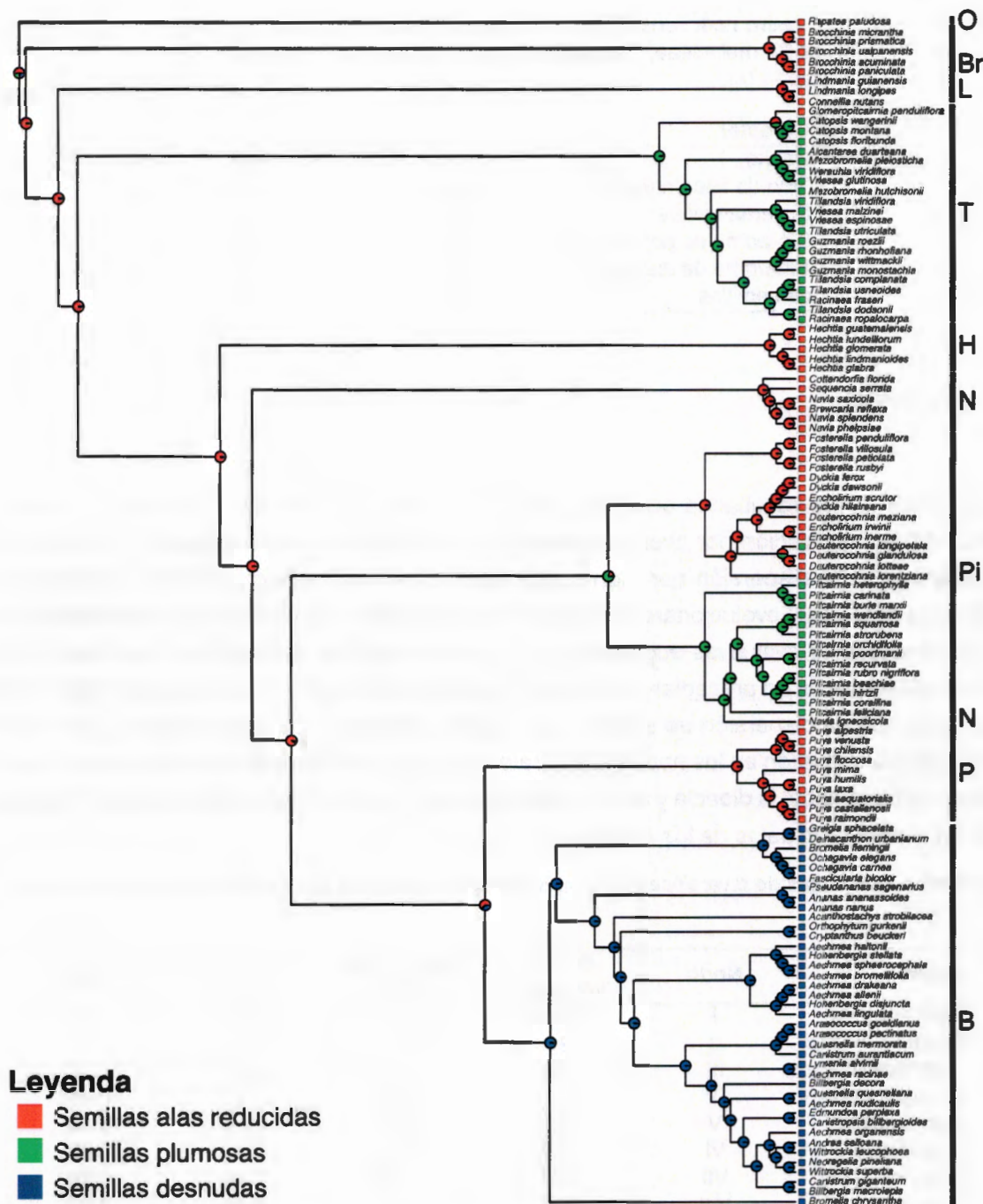


Figura IV.5. Reconstrucción de la evolución del síndrome de dispersión de semillas en la familia Bromeliaceae, con ML bajo el modelo Mk1. Las letras y barras verticales indican el grupo externo (O) y las subfamilias de Bromeliaceae: Brocchinioideae (Br), Lindmanioideae (L), Tillandsioideae (T), Hechtioideae (H), Navioidae (N), Pitcairnioideae (Pi), Puyoideae (P) y Bromelioideae (B).

Cuadro IV.4. Tendencias en la evolución de caracteres de la familia Bromeliaceae, estimadas a partir de los valores de delta (δ) y kappa (κ).

Carácter	κ	δ
Habito	0.014	0.021
Tipo de fotosíntesis	0.667	1.148
Sistema sexual	0.924	1.744
Síndrome de polinización	0.109	3
Síndrome de dispersión de semillas	0.465	0.006

DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos se puede inferir que los hábitos epífita y rupícola, el CAM, la polinización por aves y murciélagos, la dioecia y andromonoecia, así como los mecanismos de dispersión por viento, animales y de tipo balístico (semillas plumosas y semillas desnudas) evolucionaron de manera independiente en la familia Bromeliaceae. Las reconstrucciones evolutivas sugieren que los cambios en los síndromes de polinización y sistemas sexuales no precedieron a los cambios de hábito epífita o rupícola, de CAM y a los mecanismos de dispersión de semillas por viento, animales y de tipo balístico, pues estos tres últimos surgieron en los nodos ancestrales de la familia; mientras que la polinización por aves o murciélagos, la dioecia y andromonoecia fueron transiciones graduales y se muestran en las ramas terminales de los árboles.

Cuadro IV.5. Tasas de diversificación para los grupos corona de familia Bromeliaceae y sus subfamilias.

Grupo	Nodo	No. de especies	Edad grupo corona	$\epsilon = 0.0$	$\epsilon = 0.9$
Bromeliaceae	I	3346	19	0.39	0.30
Brocchinioideae	II	20	13.1	0.17	0.07
Lindmanioideae	III	45	8.9	0.34	0.18
Tillandsioideae	IV	1337	14.2	0.45	0.34
Hechtioideae	V	62	10.3	0.33	0.18
Navioideae	VI	107	10.4	0.38	0.23
Pitcairnioideae	VII	623	11.8	0.48	0.34
Puyoideae	VIII	218	10.1	0.46	0.30
Bromelioideae	IX	934	8.9	0.69	0.50

La transición evolutiva del hábito en la familia, de acuerdo a los resultados, es de terrestre a rupícola, de rupícola a epífita; es decir, el hábito rupícola es un estado intermedio en la transición hacia el hábito epífita, siendo el epifitismo el estado más derivado en la familia

Bromeliaceae. Con los resultados obtenidos no es posible inferir de manera detallada si existe un patrón de evolución asociado entre el habito epífito y rupícola y el CAM. De acuerdo con Quezada y Gianoli (2011), el CAM es más probable que ocurra en clados terrestres que en epífitos dentro de Bromeliaceae; no obstante, en los resultados de este estudio no se refleja dicho patrón, por lo que tal vez sea necesario incluir más taxa en la hipótesis filogenética a fin de poder elaborar una propuesta más robusta acerca de la asociación entre ambos caracteres. En las Bromeliaceae, el CAM es un estado de carácter que posiblemente ha favorecido la invasión, de nichos con condiciones ambientales diferentes, que en algunos casos llegan a ser extremas como el dosel o el páramo andino (donde habitan las *Puya*; Stebbins, 1974).

La evolución de las semillas aladas (no vágiles, barocoras) hacia semillas plumosas dispersadas por viento, o hacia semillas desnudas (dispersadas por animales o tipo proyectiles), sugiere cambios en características morfológicas que implican un costo, por lo que se podría pensar que confieren alguna ventaja para la dispersión, como por ejemplo la colonización de nuevos sitios o el escape de depredadores (Wenny, 2001). Sin embargo, es posible que se conserve el estado ancestral (semillas no vágiles; barocoras) en los géneros como *Hechtia*, *Navia*, *Puya*, para garantizar que las semillas lleguen a un sitio adecuado para su supervivencia (dispersión dirigida), debido a que este tipo de semillas caen cerca del lugar donde crece la madre, con lo que se promueve el llegar a sitios "seguros" para su establecimiento (Wenny, 2001).

Los cambios evolutivos en los síndromes de polinización y sistemas sexuales parecen ser recientes. Con los resultados de este estudio es posible inferir que el síndrome de entomofilia se presenta en los clados no hermafroditas (dioecia, *Catopsis* y *Hechtia*; andromonoecia, *Cryptanthus*), esta asociación ya ha sido reportada por otros autores (p.e., Matallana, 2010; Matallana *et al.*, 2005; Bawa *et al.*, 1985). La evolución de los síndromes de polinización en la familia podría estar asociada a la colonización de nuevos nichos. La polinización por colibríes podría ser un cambio ventajoso, considerando que el comportamiento de estos animales no se ve afectado por las condiciones térmicas, en contraste con lo que les sucede a los insectos. Además, el comportamiento territorial y de forrajeo que suelen caracterizar a los colibríes podría ser clave para el éxito reproductivo en las plantas, debido a que incrementa la posibilidad de visitas (Matallana, 2010; Escobedo-Sarti, 2007; Martinelli, 1994).

Evolución de los caracteres en el contexto de la familia

Los resultados obtenidos reconstruyen la hipótesis propuesta por Smith (1934), quien refiere que las bromelias ancestrales (desconocidas) posiblemente tenían habito terrestre, presentaban la ruta fotosintética C₃, polinización entomófila, sistema sexual hermafrodita, con

semillas aladas (no vágiles). Por otro lado, se ha referido que estas plantas podrían haber estado adaptadas a condiciones de tierras bajas húmedas, sabanas infértiles o areniscas, creciendo en hábitats expuestos a alta intensidad de luz, ecológicamente similares a aquellos en donde actualmente crecen los géneros *Brocchinia* y *Navia* (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004; Medina, 1974).

Con base en estudios de morfología comparada y distribución geográfica de los géneros de Bromeliaceae, Smith (1934) postuló que las bromelias ancestrales surgieron en los Andes. Medina (1974) y Pittendrigh (1948) plantearon la hipótesis de que las primeras bromelias (pertenecientes a la subfamilia Pitcairnioideae, *sensu* Smith y Downs, 1974) habitaban regiones abiertas. Con base en un análisis filogenético, Varadarajan y Gilmartin (1998) propusieron que la familia Bromeliaceae evolucionó a partir de miembros de la subfamilia Pitcairnioideae (*sensu* Smith y Downs, 1974), por primera vez en el Escudo Guayanés y de ahí proliferaron hasta alcanzar su distribución actual, esta hipótesis es apoyada por los resultados de Givnish *et al.* (2011, 2007, 2004).

De acuerdo con Givnish *et al.* (2011) las subfamilias actuales empezaron a divergir en el Mioceno, hace aprox. 19 Ma, aunque surgieron hace aprox. 100 Ma. En esta misma época (19 Ma) comenzó el levantamiento del norte de los Andes y se da la primera división de los linajes modernos de colibríes (Wagner *et al.*, 2012; Givnish *et al.*, 2007; Bleiweiss, 1998).

Subfamilias Brocchinioideae y Lindmanioideae

Ambas subfamilias son endémicas del Escudo Guayanés (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004; Smith, 1934). Brocchinioideae es considerado el clado más ancestral dentro de la familia, son plantas terrestres, con fotosíntesis C_3 (Figura IV.2), polinización entomófila (Figura IV.4), sistema sexual hermafrodita (Figura IV.3) y semillas de alas reducidas, no vágiles (Figura IV.5), así como un tanque ancestral y tricomas absorbentes.

De acuerdo con Givnish *et al.* (1997) en *Brocchinia* se originó el epifitismo en la familia, a partir de taxa carnívoros. En la hipótesis empleada por estos autores están presentes algunos taxa epífitos y carnívoros de los clados *Reducta* y *Prismatica*. En estos grupos se registran adaptaciones para la absorción de lluvia, humedad y nutrimentos, como la formación de tanque para almacenamiento de agua (por el arreglo de las hojas en forma de roseta), tricomas absorbentes y, en algunos de sus miembros, mirmecofilia o carnivoría. Givnish *et al.* (1997) proponen que estas adaptaciones fueron favorecidas por el ambiente donde crecen las *Brocchinia*, que son sitios oligotróficos, a grandes alturas, en distintos hábitats terrestres y doseles de bosques húmedos en el Escudo Guayanés.

Todas las adaptaciones que presentan las especies de *Brocchinia* para absorción de nutrientes en un ambiente mineral extremadamente pobre como son las cimas de los tepuis, así como en sitios expuestos, en los que reciben precipitación abundante y luz, se han considerado como una innovación clave para el linaje (Givnish *et al.*, 1997). Las tasas de diversificación de las subfamilias Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.07$) y Lindmanioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$; Cuadro IV.5), se encuentran entre las más bajas dentro de la familia Bromeliaceae, estos linajes permanecen en la Guayana venezolana, posiblemente por la estabilidad relativa de la zona geográfica desde el Plioceno, por su alta especialización para crecer en la piedra arenisca y por su potencial de dispersión limitado (Benzing, 1980).

La posición filogenética basal de Brocchinioideae y Lindmanioideae y su distribución geográfica en el Escudo Guayanés (Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004, 1997; Smith, 1934), han sido consideradas como evidencias de que la diversificación inicial de la familia fue en esa región (Givnish *et al.*, 2007, 2004). Posteriormente, podría haberse dado una expansión geográfica de la familia (hace aproximadamente 15.2 a 15.4 Ma) y, como consecuencia, las bromelias empezaron a invadir áreas fuera del Escudo Guayanés (norte de Sur-América, Centroamérica, el Caribe, el norte de los Andes). Se ha inferido que las bromelias ancestrales eran hermafroditas autocompatibles, lo cual les podría haber sido ventajoso para colonizar nuevos sitios, debido a que no necesitan un “compañero” para reproducirse. Este carácter les facilitaría el fundar poblaciones al llegar a nuevos sitios, y es probable que con el tiempo pudiesen divergir y llegar a formar nuevas especies de manera alopátrica (Baker, 1955).

Invadir áreas fuera del Escudo Guayanés implicó cambios en caracteres de historia de vida, adaptaciones morfológicas y fisiológicas (la formación de tanques, tricomas peltados, CAM), que probablemente fueron los principales mecanismos detrás de su diversificación ecológica y taxonómica, y quizá fueron los que ayudaron a su éxito fuera de los tepuyes (Givnish *et al.*, 2007; Benzing, 2000).

Subfamilia Tillandsioideae

En la subfamilia Tillandsioideae, se presenta la primera transición de la ruta fotosintética de C_3 a CAM, de entomofilia a ornitofilia o quiropterofilia, de semillas poco adaptadas a la dispersión por viento a semillas con apéndices plumosos bien desarrollados para la dispersión por viento (Figura IV.5). También es notable el cambio al habito epífita, como carácter predominante y la derivación de epífitas atmosféricas a partir de especies tanque en Tillandsioideae (Quezada y Gianoli, 2011; Matallana, 2010; Givnish *et al.*, 2007; Benzing, 2000).

La evolución de C_3 a CAM (Figura IV.2), y del cambio del habito terrestre a epífita (Figura IV.1), fueron transiciones rápidas y surgieron en el ancestro común más cercano de las

Tillandsioideae (Cuadro IV.4). De tal manera que posiblemente, este conjunto de caracteres, además de la aparición de tricomas absorbentes y succulencia en las hojas, les abrió un nuevo espectro de recursos ecológicos, y les permitió a las Tillandsioideae dispersarse y especiar en América Central y los Andes, en lo que probablemente fue una época cálida (Mioceno y Plioceno, ca. 14.2 Ma).

La tasa de diversificación de Tillandsioideae ($r_{0.0} = 0.45$, $r_{0.9} = 0.34$; Cuadro IV.5) es mayor que las tasas de Brocchinioideae y Lindmanioideae. Es posible observar, que el habito epífita, el CAM y las semillas anemocoras (Figuras IV.1–IV.2, IV.5) pudieron ser innovaciones clave que les permitieron a las Tillandsioideae colonizar el dosel y diversificar.

La transición evolutiva del síndrome de polinización y sistema sexual de acuerdo a los resultados, fue gradual y de origen reciente en la subfamilia Tillandsioideae (Cuadro IV.4). Krömer *et al.* (2006) sugieren que las interacciones planta-animal en la familia Bromeliaceae se adaptan a los animales y no lo contrario. Nuestros resultados apoyan esta hipótesis desde una perspectiva filogenética, pues la evolución del habito epífita, el CAM y la dispersión de semillas por viento, posiblemente dieron pauta a la evolución de los síndromes de polinización (de entomofilia a ornitofilia o quiropterofilia) y sistemas sexuales (de hermafroditas a dioicas) en el clado de Tillandsioideae.

La polinización por aves (principalmente por colibríes), aparece en esta subfamilia. Posiblemente este cambio en el polinizador esté asociado con la invasión de comunidades en elevaciones medias a altas. Es probable que esto ocurra porque las condiciones de humedad y frío pueden ser mejor toleradas por las aves; en oposición a los insectos, que dependen de las condiciones cálidas y secas para una actividad óptima (Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000). Además, las bromelias pueden ser fuentes importantes de alimento para colibríes a altas elevaciones (Krömer *et al.*, 2006).

Tillandsia y *Vriesea* tienden a ser ornitófilos y la mayoría de sus especies son epífitas. Estos géneros colonizaron de manera independiente el norte de los Andes, el Caribe y América Central, durante el Mioceno y Plioceno (ca. 14.2 Ma; Givnish *et al.*, 2011). Es posible que estos eventos coincidan con el levantamiento de los Andes y la primera división de los linajes modernos de colibríes (Givnish *et al.*, 2007; Bleiweiss, 1998). También es probable que las poblaciones de bromelias de estos géneros hayan cambiado a la polinización por aves, en respuesta a los cambios continuos en su entorno (Stebbins, 1974).

La quiropterofilia surge en *Werauhia*, *Vriesea* y *Alcantarea* dentro de la subfamilia Tillandsioideae (así como en miembros de *Guzmania*, taxa no incluidos en el análisis), y se ha asociado a condiciones tropicales húmedas (Versieux *et al.*, 2012; Krömer *et al.*, 2006; Kessler

y Krömer, 2000). Vogel (1990) y Benzing (2000) propusieron que los síndromes de polinización, podrían estar influenciados por el lastre filogenético. Esta propuesta se sustenta en que los taxa polinizados por murciélagos y aves tienen caracteres en común, tales como: flores grandes, robustas y expuestas con abundante néctar. Los resultados de este trabajo apoyan la hipótesis de Vogel (1990) y Benzing (2000), debido a que su ancestro común más cercano pudo haber sido polinizado por aves, murciélagos o insectos en igual proporción (mixta; Figura IV.4). Este tipo de síndrome de polinización "mixta", se ha registrado en *Guzmania roezlii* (E. Morren) Mez y ha sido asociado a la escasez de polinizadores, bajo estas condiciones tener un polinizador en específico puede ser poco ventajoso (Kessler y Krömer, 2000).

La posición basal de *Catopsis* dentro de Tillandsioideae, sugiere que la entomofilia en este clado es una simplesiomorfia con los clados basales de la familia (Brocchinioideae y Lindmanioideae). En *Catopsis* surge el primer cambio de sistema sexual en la familia de hermafroditismo a dioecia (Figura IV.3).

Teóricamente, el primer paso en la evolución de la dioecia lo constituye la aparición de individuos que son estériles para alguna de las dos funciones reproductivas, en una población hermafrodita (Torices, 2008; Vamosi y Vamosi, 2005; Heilbuth, 2000). Si los individuos que surgen son estériles para la función masculina, la población estará conformada por individuos hermafroditas e individuos que funcionan como hembras (población ginodioica; Torices, 2008; Vamosi y Vamosi, 2005; Heilbuth, 2000). Cuando los individuos son estériles para la función femenina, la población estará conformada por individuos hermafroditas e individuos que funcionan como machos (población androdioica; Torices, 2008; Vamosi y Vamosi, 2005; Heilbuth, 2000). En *Catopsis* existe más o menos este patrón, se ha reportado que la expresión sexual se ve afectada por factores de selección local (Palací, 1997). Esto porque se ha observado una variación en la supresión de la función masculina en algunas poblaciones de *Catopsis berteroniana* (Schult. & Schult. f.) Mez, *C. floribunda* L. B. Sm., *C. juncifolia* Mez & Wercklé, *C. morreniana* Mez, *C. nutans* (Sw.) Griseb., *C. sessiliflora* (Ruiz & Pav.) Mez y *C. wangerinii* Mez & Wercklé, en respuesta a las condiciones ambientales y, además, se conocen poblaciones ginodioicas (Palací, 1997); sin embargo, es necesario hacer estudios detallados al respecto.

Es posible que la evolución hacia la dioecia se haya dado para favorecer una asignación de recursos más eficiente en un ambiente crítico como el epífita (Vamosi y Vamosi, 2005; Heilbuth, 2000). La división de labores reproductivas podría aumentar su vigor competitivo, y facilitar la colonización de nuevos sitios al dividir los recursos, promoviendo así su mantenimiento en un ambiente tan extremo como es el dosel (Heilbuth, 2000). La dioecia

ha evolucionado de manera independiente en la familia al menos dos veces (en el género *Catopsis* y en la subfamilia monogénica Hechtioideae).

Subfamilia Hechtioideae

Hechtia, es un clado conformado por especies de habito terrestre o rupícola, una simple-siomorfia con los clados ancestrales, y con CAM, que según nuestros análisis y de otros autores, ha evolucionado de manera independiente dentro de la familia (Figura IV.2; Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Reinert *et al.*, 2003). Es posible que el CAM haya surgido en este clado como una respuesta a las temperaturas cálidas del Mioceno (Pound *et al.*, 2011). Estos caracteres podrían haberle dado ventajas competitivas a este linaje para conquistar las zonas áridas de América Central (Quezada y Gianoli, 2011; Schulte *et al.*, 2009; Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Varadarajan y Gilmartin, 1998; Ehleringer y Monson, 1993).

Actualmente, se ha sugerido que la colonización de áreas áridas por *Hechtia* en México y América Central a partir del Escudo Guayanés, involucró uno o más eventos de dispersión de semillas a larga distancia vía directamente América Central, aunque el evento se considera poco claro (Givnish *et al.*, 2011). Hechtioideae presenta semillas de alas reducidas (no vágiles; barocoras), al igual que el ancestro común más cercano del clado (Figura IV.5); por lo que posiblemente alcanzó su distribución actual mediante un proceso de colonización de isla en isla (island hopping; Pennington y Dick, 2004). Además, es un clado dioico (Figura IV.3), lo que puede ser poco ventajoso al momento de la colonización y entomófilo (Figura IV.4); esto implica que requiere un factor biótico para llevar a cabo la polinización.

De acuerdo con Heilbuth (2000), las plantas dioicas como colonizadores presentan desventajas con respecto a las plantas no dioicas: (1) Para la creación de nuevas subpoblaciones es necesario que al menos un individuo de cada sexo esté presente. (2) La producción de semillas en una hembra dioica (produce sólo óvulos) debería ser mayor a la de una hermafrodita (produce polen y óvulos), pero si las semillas se dispersan poco, entonces el agrupamiento espacial de semillas y plántulas de una planta dioica será mayor que la de una hermafrodita, y por lo tanto, habrá una mayor competencia por los recursos y probablemente mayor mortalidad. (3) El éxito reproductivo en las plantas dioicas con polinización biótica (como es el caso de *Hechtia* y *Catopsis*) depende de la frecuencia con que los polinizadores las visitan para que se lleve a cabo la fecundación, ya que requieren que un mismo grupo de polinizadores visite tanto las plantas masculinas como las femeninas, situación que podría ser drástica en ambientes donde hay limitación de visitantes florales (Heilbuth, 2000).

A partir del análisis de evolución de caracteres, se puede inferir que el ancestro común más cercano de *Hechtia* era hermafrodita (Figura IV.3). Por ello es posible que una vez que

colonizó áreas áridas de México y América Central, ocurriera la transición hacia la dioecia de manera gradual (Cuadro IV.4); de tal manera que, la división de labores reproductivas en las poblaciones ya establecidas se vio favorecida por la asignación de recursos de una manera más eficiente, especialmente en hábitats asociados a suelos rocosos, de origen calcáreo o volcánico y de carácter oligotrófico (Vamosi y Vamosi, 2005; Heilbuth, 2000).

La teoría de asignación sexual proporciona un modelo teórico para explicar la variación en la expresión sexual tanto a un nivel intraespecífico como interespecífico (Torices, 2008). Esta teoría predice que la asignación a una función sexual, ya sea la femenina o la masculina, debería ser incrementada en aquellas circunstancias donde esa función obtiene un mayor éxito. Estos ajustes en la asignación sexual entre flores dentro de un individuo, o entre individuos dentro de una población, podrían incluso llegar a la unisexualidad; como se ha reportado para el género *Catasetum* Rich. ex Kunth dentro de la familia Orchidaceae (Torices, 2008; Zimmerman, 1991).

La dioecia es el sistema sexual en plantas que ha sido asociado con tasas de especiación bajas y/o tasas de extinción altas (Heilbuth, 2000; Baker, 1955). Una de las explicaciones es que las poblaciones dioicas pueden llegar a presentar menor diversidad genética que las poblaciones hermafroditas, y la disminución de la diversidad genética de una especie, puede incrementar el riesgo de extinción (Abarca *et al.*, 2010). Es posible que debido al sistema sexual dioico, la tasa de diversificación de Hechtioideae sea la segunda más baja después de Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$; Cuadro IV.5).

Subfamilia Navioideae

La diversificación de la subfamilia sucede durante el Mioceno (Givnish *et al.*, 2011), cuando surge el levantamiento de Los Andes y se da la primera división de los linajes modernos de colibríes (Givnish *et al.*, 2007; Bleiweiss, 1998). Es posible que la evolución hacia la ornitofilia en algunos miembros de esta subfamilia, esté asociada a dichos eventos, considerando que la evolución del síndrome de polinización ha sido gradual y reciente en la familia (Cuadro IV.4). Actualmente este clado presenta una distribución dentro del Escudo Guayanés (excepto *Cottendorfia*), donde los suelos son poco profundos y extremadamente pobres en nutrimentos. En algunos miembros de este clado, hubo una evolución en el hábito, de terrestre a rupícola (Figura IV.1), posiblemente porque en las superficies rocosas, poco inclinadas, se pueden acumular sólo unos pocos milímetros o centímetros de tierra debido a la escorrentía de aguas pluviales.

En este clado se favorece el mantenimiento de algunos caracteres plesiomórficos (selección estabilizadora; Stebbins, 1974). Quizá esto esté asociado al tipo de nicho que ocupan estas

especies. Al ser plantas rupícolas, la presencia de semillas de alas reducidas (no vágiles), posiblemente les permite garantizar que las semillas caigan en lugares en donde podrían establecerse, como pequeñas fisuras o grietas en las rocas. La fotosíntesis C_3 quizá se ha mantenido porque están en un ambiente húmedo. El sistema sexual hermafrodita, probablemente facilite la autogamia y con ello la reproducción sexual y el mantenimiento de sus poblaciones; no hay registro de autoincompatibilidad para los miembros de este clado. Con los resultados obtenidos en el cálculo de la tasa de diversificación de esta subfamilia, se puede inferir que el éxito evolutivo de las Navioideae, no está asociado a la especiación, pues presenta una de las tasas de diversificación más bajas en la familia ($r_{0,0} = 0.38$, $r_{0,9} = 0.23$; Cuadro IV.5).

Subfamilia Pitcairnioideae

La diversificación del grupo corona de la subfamilia Pitcairnioideae comenzó hace ca. de 11.8 Ma (Mioceno; Givnish *et al.*, 2011). Primero a partir del Escudo Guayanés hacia el norte de los Andes y Sur de Chile y sus vertientes de tierras bajas por *Pitcairnia*; posteriormente, hacia los Andes centrales. Durante este tiempo ocurre la diversificación que dio origen al resto de los géneros de la subfamilia (*Deuterocohnia*, *Fosterella*, *Dyckia*, *Encholirium*) y ocurrió la dispersión a larga distancia a África (*Pitcairnia feliciana*; Givnish *et al.*, 2011, 2007, 2004; Varadarajan y Gilmartin, 1998; Smith y Downs, 1974).

Los resultados sugieren que el ancestro común a partir del cual divergieron los linajes de esta subfamilia, podría haber sido terrestre (Figura IV.1), con fotosíntesis C_3 (Figura IV.2), ornitofilia (Figura IV.4), hermafrodita (Figura IV.3) y semillas plumosas, adaptadas a la dispersión por viento (Figura IV.5). Las reconstrucciones paleobotánicas insinúan que la vegetación en esas zonas era principalmente bosques tropicales caducifolios y matorrales xerófilos (Hinojosa, 2005); lo que sugiere que inicialmente se desarrolló en ambientes áridos, posiblemente a elevaciones bajas.

Es posible que debido a las condiciones de aridez, se haya presentado la transición evolutiva de una manera puntual hacia el CAM en los grupos altamente xeromórficos, como *Deuterocohnia*, *Dyckia* y *Encholirium* (Cuadro IV.4, Figura IV.2). Wagner *et al.* (2012) sugieren que es posible que exista un alto grado de conservación de nicho en *Fosterella*, debido a que presenta fotosíntesis C_3 y actualmente crece en hábitats similares a los ancestrales.

La evolución hacia la ornitofilia en *Pitcairnia* y *Pepinia* (Figura IV.4), podría estar asociada con la transición evolutiva en la flor hacia la simetría bilateral, pues se conoce que las abejas son sólo atraídas por flores simétricas (Jabbour *et al.*, 2009). Esto podría favorecer el aislamiento reproductivo y la especiación del clado (Kay y Sargent, 2009); además de

la invasión de comunidades de elevaciones medias a altas (Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000). La quiropterofilia ha evolucionado de manera independiente en la familia al menos dos veces (Figura IV.4), en *Encholirium* (Pitcairnioideae) y en *Guzmania* (Tillandsioideae), y se ha asociado a la colonización de hábitats tropicales húmedos (Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000).

En cuanto a la polinización por insectos presente en *Fosterella*, *Deuterocohnia* y *Dyckia* (Figura IV.4), es posible que se conserve el síndrome de polinización dada su distribución en ambientes cálidos. Esta posibilidad se basa en el principio del polinizador más efectivo, pues en estos ambientes la actividad de insectos es más alta, comparada con su actividad en ambientes fríos (Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000; Stebbins, 1974).

La tasa de diversificación de la subfamilia Pitcairnioideae es la segunda más alta de la familia ($r_{0,0} = 0.49$, $r_{0,9} = 0.35$; Cuadro IV.5). Es posible que esta tasa se deba a la combinación de caracteres considerados clave en la diversificación de las Angiospermas, tales como la simetría bilateral (*Pitcairnia*; Jabbour *et al.*, 2009) y el CAM (*Deuterocohnia*, *Dyckia* y *Encholirium*; Quezada y Gianoli, 2011).

Subfamilia Puyoideae

La divergencia entre Puyoideae y Bromelioideae parece haber ocurrido hace ca. 13.4–10 Ma (Givnish *et al.*, 2011); mientras que, la diversificación del grupo corona de *Puya* sucedió ca. 10.1–10 Ma (Jabaily y Sytsma, 2013; Jabaily, 2009; Givnish *et al.*, 2011; Schulte *et al.*, 2009). Con base en estos estimados se ha sugerido que los principales eventos que pudieron haber contribuido a la evolución de la subfamilia son: el levantamiento de los Andes (Mioceno-Pleistoceno) y las glaciaciones del Pleistoceno (Jabaily y Sytsma, 2013, 2010; Givnish *et al.*, 2011).

Es probable que la evolución hacia el CAM (Figura IV.2) les permitió a los miembros de esta subfamilia adaptarse a una amplia variedad de hábitats xéricos y méxicos (Schulte *et al.*, 2009). Es posible que este carácter se haya visto favorecido luego del levantamiento de los Andes y los cambios climáticos, que tal vez acentuaron la aridez e influyeron sobre la posición de los cinturones de vegetación en el gradiente altitudinal. En estos cambios es probable que las glaciaciones del Pleistoceno hayan jugado un papel importante.

Durante las glaciaciones cíclicas del Pleistoceno, los bosques tropicales y de montaña bajaban hasta los 1200–1500 m durante el pico de la glaciación, para luego subir durante los periodos inter-glaciares. Durante estos períodos, los ecosistemas más fríos como la puna y el páramo se expandieron y contrajeron (Haffer y Prance, 2001). Se ha sugerido que estos

fenómenos promovieron la fragmentación de poblaciones, lo que podría haber dado lugar a eventos de especiación alopátrica en el género *Puya* (Jabaily y Sytsma, 2013). De acuerdo con Benzing (2000), las semillas de *Puya*, a pesar de poseer alas son poco vágiles, lo que podría apoyar la hipótesis de Jabaily y Sytsma (2013). También es posible que debido a todos esos cambios ambientales, la selección estabilizadora favoreció el mantenimiento de este tipo de dispersión, del sistema sexual hermafrodita y el habito terrestre (Figuras IV.1–IV.5; Stebbins, 1974).

Posiblemente las glaciaciones cíclicas del Pleistoceno, hayan influido en el cambio hacia la ornitofilia en este clado (Figura IV.4), porque las condiciones de humedad y frío pueden ser mejor toleradas por las aves. De hecho, este síndrome de polinización permite establecer una relación mutualista en donde el néctar que ofrecen las bromelias como recompensa a sus polinizadores, funge como una fuente de alimento para ellos (Krömer *et al.*, 2006; Kessler y Krömer, 2000).

Con base en los resultados se puede inferir que la diversificación de esta subfamilia podría estar asociada con el CAM y la polinización por aves ($r_{0,0} = 0.46$, $r_{0,9} = 0.30$; Cuadro IV.5).

Subfamilia Bromelioideae

La invasión del Escudo brasileño por Bromelioideae se calcula que fue ca. de 7 Ma (Schulte *et al.*, 2005). Los resultados sugieren que el ancestro putativo de la subfamilia, presentaba habito terrestre, sistema sexual hermafrodita, el CAM, ornitofilia y semillas dispersadas por viento (Figuras IV.1–IV.5). En el clado hubo evolución hacia el habito epífita hace ca. de 5.5 Ma. En este cambio, dos eventos importantes podrían haber estado involucrados: el levantamiento de la Sierra del Mar en Brasil (principalmente durante los tiempos del Plioceno-Pleistoceno) y el levantamiento del centro del Altiplano Andino (a finales del Mioceno); estos cambios ocasionaron una modificación en el patrón de circulación del viento, por lo que el clima se volvió más frío y lluvioso en la selva tropical de la Sierra del Mar.

La divergencia entre Puyoideae y Bromelioideae se dio en el Mioceno-Pleistoceno. En el superárbol (Figura IV.1), el género *Greigia* es uno de los grupos más basales de la subfamilia Bromelioideae, al igual que sucede en la filogenia de Schulte *et al.* (2005). Este género se asemeja a *Puya* en su distribución andina y el habito terrestre (Figura IV.1), aunque tiende a crecer en hábitats más húmedos, a menudo sombríos y tiene fotosíntesis C_3 . Lo anterior sugiere que en la subfamilia la fotosíntesis C_3 y el habito terrestre son caracteres plesiomórficos, pues el corazón de Bromelioideae, son en su mayoría CAM y epífitos (Schulte *et al.*, 2005).

Los resultados sugieren que el proceso de transformación hacia el habito epífito (Figura IV.1), CAM (Figura IV.2) y semillas desnudas (Figura IV.5), fue rápido (Cuadro IV.4) y se dio en los ancestros del clado. Es posible que estas transiciones ocurrieran cuando las Bromelioideae empezaron a colonizar la selva tropical y se enfrentaron, en el sotobosque, a una disminución en la cantidad de luz y a la falta de exposición al viento, lo que dificultaba el transporte de las semillas. Quizá las presiones de selección favorecieron la colonización del habito epífito, como un medio para alcanzar mejores condiciones de luz (Medina, 1974). Así mismo, la colonización del habito epífito posiblemente favoreció la reversión al CAM, para hacer más eficiente el uso del agua (Silvera *et al.*, 2009; Medina, 1974), y el cambio a semillas autocoras o zoocoras.

La mayoría de las bromelioides son hermafroditas, con una transición hacia la andromonoecia en *Cryptanthus* subgénero *Cryptanthus* (Figura IV.3; Ramírez, 1996). Aunque en la hipótesis de este análisis, no están presentes las otras transiciones evolutivas hacia sistemas sexuales no hermafroditas; es conocido que en la subfamilia hubo evolución hacia la dioecia, en *Aechmea mariae-reginae* H. Wendl. y *Androlepis* (Ramírez *et al.*, 2008; Ramírez, 1996; Benzing, 2000).

Se ha sugerido que por la selección sexual, la andromonoecia podría ser una etapa intermedia hacia la monoecia, dentro de un contexto de la evolución hacia la dioecia (Torices y Anderberg, 2009; Bawa y Beach, 1981; Willson, 1979; Charlesworth y Charlesworth, 1978). De acuerdo a esta hipótesis, la interferencia entre las funciones masculina y femenina en una flor, promueve la especialización sexual de las flores en receptores y dadores de polen. Esta hipótesis predice que desde un ancestro con flores hermafroditas, algunas flores unisexuales evolucionarían sobre un mismo individuo y en un paso posterior serían los individuos unisexuales los que serían seleccionados.

Con las reconstrucciones filogenéticas actuales para la subfamilia Bromelioideae (Sass y Specht, 2010; Schulte *et al.*, 2009; Schulte y Zizka, 2008; Schulte *et al.*, 2005), es posible inferir que el sistema sexual hermafrodita es el estado ancestral en la subfamilia (Figura IV.3); mientras que, los sistemas sexuales no hermafroditas son los estados derivados. Sin embargo, no se puede dilucidar detalladamente cómo se han dado los cambios evolutivos, ni bajo cuáles circunstancias. Con base en lo sugerido por la literatura, se puede proponer que los cambios evolutivos en los sistemas sexuales, se pudieron deber a la influencia de al menos dos presiones selectivas: La primera es evitar la autofecundación, esto quizá por la ventaja de la fecundación cruzada, con respecto a la autofecundación debido a la depresión endogámica (Charlesworth y Charlesworth, 1978). La segunda, por selección sexual, que según la teoría de asignación óptima de recursos a las funciones, puede resultar en ventajas

competitivas (Torices y Anderberg, 2009; Vamosi y Vamosi, 2004; Bawa y Beach, 1981; Cox, 1981; Bawa, 1980; Lloyd, 1980; Willson, 1979; Charlesworth y Charlesworth, 1978).

Es posible que las transiciones hacia la ornitofilia, quiropterofilia y sistemas de polinización mixtos, hayan surgido por los cambios en las condiciones ecológicas durante la radiación de Bromelioideae. Esto podría haber dado lugar a una fuerte selección para la transición de polinizador (Campbell, 2008), pues cada vez que se expande el área de distribución de una especie, no necesariamente se expande la distribución del principal polinizador, lo que puede propiciar el cambio de polinizador. También, se pudo dar el caso que las poblaciones de polinizadores disminuyeron a causa de las condiciones ecológicas y/o se dio lugar a cambios en la comunidad de polinizadores disponibles (Kay y Sargent, 2009; Campbell, 2008; Memmott *et al.*, 2007; Ramsey *et al.*, 2003).

En el superárbol se puede observar la transición hacia sistemas de polinización mixtos (Figura IV.4); esto es, que pueden presentar dos o más síndromes de polinización, lo que sucede en varias especies: *Aechmea bromeliifolia* (Rudge) Baker, *A. racinae* L.B. Sm., *A. sphaerocephala* Baker, *Hohenbergia disjuncta* L.B. Sm. Una posible explicación a la aparición de sistemas de polinización mixtos, podría ser que las condiciones ambientales limitan la disponibilidad de polinizadores específicos. Se ha propuesto que en condiciones difíciles, con pocos polinizadores disponibles, puede ser desventajoso para las plantas adaptarse a polinizadores específicos. Por ello es posible que para maximizar su éxito reproductivo, utilicen grupos de animales no determinados como vector de transmisión de polen, con el fin de asegurar la polinización (Kay y Sargent, 2009; Kessler y Krömer, 2000).

El mayor valor de diversificación de linajes obtenido de la familia Bromeliaceae, lo presenta la subfamilia Bromelioideae ($r_{0,0} = 0.69$, $r_{0,9} = 0.51$; Cuadro IV.5), en este clado la evolución hacia semillas zoocoras o autocoras podría ser un carácter relevante para la diversificación del grupo, asociado con el CAM y el hábito epífito.

Familia Bromeliaceae

En cuanto a la tasa de diversificación de la familia Bromeliaceae ($r_{0,0} = 0.39$, $r_{0,9} = 0.30$; Cuadro IV.5), los valores sugieren que su diversificación es más alta que las tasas de diversificación de Asterales ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.27$), Lamiales ($r_{0,0} = 0.21$, $r_{0,9} = 0.17$), Gentianales ($r_{0,0} = 0.21$, $r_{0,9} = 0.17$), Solanales ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.14$), y Apiales ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.14$), los cuales fueron identificados por Magallón y Sanderson (2001) como las tasas más altas dentro de las Angiospermas.

Es posible que estos valores estén reflejando el proceso reciente de diversificación de la familia (ca. 19 millones de años; Givnish *et al.*, 2011). Por otro lado, la exitosa diversificación de las bromelias, podría atribuirse a la evolución y la tendencia a mantener en diversos

clados el habito epífito, CAM y síndromes de dispersión de semillas por viento o como proyectiles o con ayuda de animales, que les abrieron nuevas oportunidades ecológicas, al conferirles ventajas evolutivas. Por ejemplo, el habito epífito les permite colonizar nichos específicos en una gran diversidad de hábitats. La ruta fotosintética CAM le proporciona mayor plasticidad fisiológica comparado con plantas C_3 , lo cual puede facilitar el reaccionar más eficientemente a condiciones ambientales altamente dinámicas. Las semillas anemocoras, zoocoras, autocoras presentes en Bromeliaceae, les confieren la oportunidad de colonizar nuevos lugares, escapar de alta mortalidad cerca de plantas co-específicas, etc. (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Quezada y Gianoli, 2011; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000).

Por otro lado, los resultados obtenidos también sugieren que los cambios evolutivos en los sistemas sexuales y los síndrome de polinización han sido recientes, y posiblemente han cambiado de acuerdo a los sitios que van colonizando. Sin embargo, es posible que estos dos caracteres tengan menor peso en la diversificación de la familia, comparado con el CAM, el habito epífito y los mecanismos de dispersión de semillas; claro que para corroborar esta hipótesis es necesario hacer estudios más detallados, e incluir otros caracteres como, la formación de tanques por el arreglo de sus hojas, tricomas absorbentes y la succulencia.

CONCLUSIONES

En cuanto a la evolución de los caracteres de historia de vida seleccionados para este estudio, se encontró que el habito, el CAM y el síndrome de dispersión de semillas, han evolucionado de manera rápida, y su evolución se concentra en los nodos ancestrales de los linajes existentes. Mientras que la evolución del síndrome polinización y sistema sexual ha sido de manera gradual, y los cambios evolutivos probablemente han sido recientes.

Con los análisis desarrollados en este capítulo, se sostiene la hipótesis que los primeros miembros de familia posiblemente eran terrestres, con fotosíntesis C_3 , con flores hermafroditas, polinizados por insectos, con semillas sin apéndices y dispersadas por la fuerza de la gravedad (Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Smith, 1934).

Los valores de las tasas de diversificación obtenidas con el método de Magallón y Sanderson (2001), sugieren una diversificación alta para la familia Bromeliaceae, de las ocho subfamilias reconocidas por Givnish *et al.* (2011), la tasa de diversificación más alta la presenta la subfamilia Bromelioideae ($r_{0.0} = 0.69$, $r_{0.9} = 0.50$; Cuadro IV.5), seguida de Pitcairnioideae ($r_{0.0} = 0.48$, $r_{0.9} = 0.34$); mientras que la tasa más baja la presenta la subfamilia Brocchinioideae ($r_{0.0} = 0.17$, $r_{0.9} = 0.07$), seguida de Hechtioideae ($r_{0.0} = 0.33$, $r_{0.9} = 0.18$).

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, G., G. Cuevas y C. Domínguez (2010). ¿Es la evolución de la dioecia un callejón sin salida? *Ciencias*, 99: 10–13.
- Baker, H. (1955). Self-Compatibility and establishment after long distance dispersal. *Evolution*, 9: 347–349.
- Bawa, K. (1980). Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 15–39.
- Bawa, K. y J. Beach (1981). Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 68: 254–274.
- Bawa, K., S. Bullock, D. Perry, R. Coville y M. Grayum (1985). Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *American Journal of Botany*, 72: 346–356.
- Benzing, D. (1980). *The Biology of the Bromeliads*. Mad River Press Inc., California, U.S.A., 321 p.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 690 p.
- Bininda-Emonds, O., M. Cardillo, K. Jones, R. MacPhee, R. Beck, R. Grenyer, S. Price, R. Vos, J. Gittleman y A. Purvis (2007). The delayed rise of present-day mammals. *Nature*, 446: 507–512.
- Bleiweiss, R. (1998). Tempo and mode of hummingbird evolution. *Biological Journal of the Linnean Society*, 65: 63–76.
- Blomberg, S. P. y T. Garland (2002). Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 899–910.
- Campbell, D. (2008). Pollinator shifts and the origin and loss of plant species. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 95: 264–274.
- Charlesworth, B. y D. Charlesworth (1978). A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*, 112: 975–997.
- Cox, P. (1981). Niche partitioning between sexes of dioecious plants. *The American Naturalist*, 117: 295–307.

- Crayn, D., K. Winter y J. Smith (2004). Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology*, 101: 3703–3708.
- Darriba, D., G. Taboada, R. Doallo y D. Posada (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- Ehleringer, J. y R. Monson (1993). Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 411–439.
- Escobedo-Sarti, G. J. (2007). *Biología de la Reproducción de Tillandsia prodigiosa (Lem.) Baker Bromeliaceae*. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo de Integral Regional-IPN, Oaxaca, México. 83 p.
- Givnish, T., M. Barfuss, B. Van Ee, R. Riina, K. Schulte, R. Horres, P. Gonsiska, R. Jabaily, D. Crayn, J. Smith, K. Winter, G. Brown, T. Evans, B. Holst, H. Luther, W. Till, G. Zizka, P. Berry y K. Sytsma (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98: 1–24.
- Givnish, T., K. Millam, P. Berry y K. Sytsma (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso*, 23: 3–26.
- Givnish, T., K. Millam, T. Evans, J. Hall, J. Pires, P. Berry y K. Sytsma (2004). Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunction in Rapataceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequences and morphology. *Evolution*, 54: 1915–1937.
- Givnish, T., K. Sytsma, J. Smith, W. Hahn, D. Benzing y E. Burkhardt (1997). Molecular evolution and adaptive radiation in *Brocchinia* (Bromeliaceae: Pitcairnioideae) atop Tepuis of the Guayana Shield. En G. T.J. y K. Sytsma (eds.) *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*, pp. 259–311. Cambridge University Press, Cambridge, USA.
- Granados, C. (2008). *Sistemática del Complejo Tillandsia macdougallii (Bromeliaceae)*. Tesis de Maestría, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 75 p.
- Haffer, J. y G. Prance (2001). Climatic forcing of evolution in Amazonia during the Cenozoic: on the refuge theory of biotic differentiation. *Amazoniana*, 16: 579–605.
- Harmon, L. J., J. T. Weir, C. D. Brock, R. E. Glor y W. Challenger (2008). GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24: 129–131.

- Heilbuth, J. (2000). Lower species richness in dioecious clades. *The American Naturalist*, 156: 221–241.
- Hernández, C. (1998). *La Teoría del Equilibrio Puntuado como una Aportación a la Teoría Evolutiva*. Biología Experimental. UAM-Unidad Ixtapalapa, México D.F., México, 35 p.
- Hinojosa, L. F. (2005). Cambios climáticos y vegetacionales inferidos a partir de paleofloras cenozoicas del sur de Sudamérica. *Revista Geológica de Chile*, 32: 95–115.
- Hornung-Leoni, C. y V. Sosa (2008). Morphological phylogenetics of *Puya* subgenus *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156: 93–110.
- Jabaily, R. (2009). *Systematics and Evolution of Puya (Bromeliaceae)*. Tesis de Doctorado, University of Wisconsin-Madison, Madison, U.S.A. 230 p.
- Jabaily, R. y K. Sytsma (2010). Phylogenetics of *Puya* (Bromeliaceae): placement, major lineages, and evolution of Chilean species. *American Journal of Botany*, 97: 337–356.
- Jabaily, R. y K. Sytsma (2013). Historical biogeography and life-history evolution of Andean *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171: 201–224.
- Jabbour, F., S. Nadot y C. Damerval (2009). Evolution of floral symmetry: a state of the art. *Comptes Rendus Biologies*, 332: 219–231.
- Jones, K., O. Bininda-Emonds y J. Gittleman (2005). Bats, clocks, and rocks: diversification patterns in Chiroptera. *Evolution*, 59: 2243–2255.
- Kay, K. y R. Sargent (2009). The role of animal pollination in plant speciation: integrating ecology, geography, and genetics. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40: 637–656.
- Kessler, M. y T. Krömer (2000). Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. *Plant Biology*, 2: 659–669.
- Krömer, T., M. Kessler y S. K. Herzog (2006). Distribution and flowering ecology of bromeliads along two climatically contrasting elevational transects in the Bolivian Andes. *Biotropica*, 38: 183–195.
- Lewis, P. O. (2001a). A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character Data. *Systematic Biology*, 50: 913–925.
- Lewis, P. O. (2001b). Phylogenetics systematics turns over a new leaf. *Trends in Ecology & Evolution*, 16: 30–37.

- Lloyd, D. (1980). The distribution of gender in four angiosperm species illustrating two evolutionary pathways to dioecy. *Evolution*, 34: 123–134.
- Losos, J. (1999). Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Animal Behaviour*, 58: 1319–1324.
- Luther, H. (2012). *An Alphabetical List of Bromeliad Binomials*. Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International, Sarasota, USA, 44 p.
- Magallón, S. y M. Sanderson (2001). Absolute diversification rates in Angiosperm clades. *Evolution*, 55: 1762–1780.
- Martinelli, G. (1994). *Reproductive Biology of Bromeliaceae in the Atlantic Rainforest of Southeastern Brazil*. Tesis de Doctorado, School of Biological and Medical Sciences University of St. Andrews, St. Andrews, U.S.A. 197 p.
- Matallana, T. (2010). *Sistemas Reproductivos, Ecologia da Polinização e Hibridização em Bromeliaceae numa perspectiva local à evolutiva*. Tesis de Doctorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 197 p.
- Matallana, T. G., T. Wendt, D. Araujo y F. Scarano (2005). High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. *American Journal of Botany*, 92: 1513–1519.
- Medina, E. (1974). Dark CO₂ fixation, habitat preference and evolution within the Bromeliaceae. *Evolution*, 28: 677–686.
- Memmott, J., P. Craze, N. Waser y M. Price (2007). Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology Letters*, 10: 710–717.
- Pagel, M. (1999a). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401: 877–884.
- Pagel, M. (1999b). The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology*, 48: 612–622.
- Palací, C. (1997). *A Systematic Revision of the Genus Catopsis (Bromeliaceae)*. Tesis de Doctorado, University of Wyoming, Wyoming, U.S.A. 245 p.
- Paradis, E. (2012). *Analysis of Phylogenetics and Evolution with R*. Springer, New York, U.S.A., 386 p.
- Paradis, E., J. Claude y K. Strimmer (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20: 289–290.

- Pennington, R. y C. Dick (2004). The role of immigrants in the assembly of the South American rainforest tree flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 359: 1611–1622.
- Pittendrigh, C. (1948). The Bromeliad-Anopheles-Malaria Complex in Trinidad. I-The Bromeliad Flora. *Evolution*, 2: 58–89.
- Pound, M., A. Haywood, U. Salzmann, J. Riding, D. Lunt y S. Hunter (2011). A Tortonian (Late Miocene, 11.61–7.25 Ma) global vegetation reconstruction. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 300: 29–45.
- Quezada, I. y E. Gianoli (2011). Crassulacean acid metabolism photosynthesis in Bromeliaceae: an evolutionary key innovation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 104: 480–486.
- R Core Team (2012). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ramírez, I. M. (1996). *Systematics, Phylogeny, and Chromosome Number Evolution of Cryptanthus (Bromeliaceae)*. Tesis de Doctorado, University of Missouri-St. Louis, St. Louis Missouri, U.S.A. 268 p.
- Ramírez, I. M., F. Chi, G. Carnevali y F. May (2008). Reproductive biology of *Hechtia schottii*, a dioecious Bromeliaceae, in Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 56: 279–289.
- Ramsey, J., H. Bradshaw y D. Schemske (2003). Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution*, 57: 1520–1534.
- Reinert, F., C. Russo y L. Salles (2003). The evolution of CAM in the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 80: 261–268.
- Sass, C. y C. Specht (2010). Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 559–571.
- Schluter, D., T. Price, A. Mooers y D. Ludwig (1997). Likelihood of Ancestor States in Adaptive Radiation. *Evolution*, 51: 1699–1711.
- Schulte, K., M. Barfuss y G. Zizka (2009). Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51: 327–339.

- Schulte, K., R. Horres y G. Zizka (2005). Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). *Senckenbergiana Biology*, 85: 113–125.
- Schulte, K. y G. Zizka (2008). Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. *Candollea*, 63: 209–255.
- Silvera, K., L. Santiago, J. Cushman y K. Winter (2009). Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae. *Plant Physiology*, 149: 1838–1847.
- Silvestro, D., G. Zizka y K. Schulte (2013). Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution*, *en prensa*.
- Smith, L. (1934). Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 66: 446–465.
- Smith, L. y R. Downs (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 14: 1–662.
- Stebbins, L. G. (1974). *Flowering Plants. Evolution above the Species Level*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, USA, 397 p.
- Torices, B. (2008). *Evolución de los Sistemas Sexuales no Hermafroditas en Asteraceae*. Tesis de Doctorado, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España. 83 p.
- Torices, R. y A. Anderberg (2009). Phylogenetic analysis of sexual systems in *Inuleae* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 96: 1011–1019.
- Vamosi, J. y S. Vamosi (2004). The role of diversification in causing the correlates of dioecy. *Evolution*, 58: 723–731.
- Vamosi, J. y S. Vamosi (2005). Present day risk of extinction may exacerbate the lower species richness of dioecious clades. *Diversity and Distributions*, 11: 25–32.
- Varadarajan, G. y A. Gilmartin (1998). Morphological variation of some floral features of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. *Botanical Gazette*, 149: 82–91.
- Versieux, L., T. Barbará, L. Gracas, A. Calvente, F. Michael y C. Lexer (2012). Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (*Alcantarea*, Bromeliaceae): implications

- for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 177–189.
- Vogel, S. (1990). History of the Malpighiaceae in the Light of Pollination Ecology. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 55: 130–142.
- Wagner, N., D. Silvestro, D. Brie, P. Ibish, G. Zizka, K. Weising y K. Schulte (2012). Spatio-temporal evolution of *Fosterella* (Bromeliaceae) in the Central Andean biodiversity hotspot. *Journal of Biogeography*, 40: 869–880.
- Wenny, D. (2001). Advantages of seed dispersal: A re-evaluation of directed dispersal. *Evolutionary Ecology Research*, 3: 51–74.
- Willson, M. (1979). Sexual Selection in Plants. *The American Naturalist*, 113: 777–790.
- Zimmerman, J. (1991). Ecological Correlates of Labile Sex Expression in the Orchid *Catasetum viridiflavum*. *Ecology*, 72: 597–608.
- Zwickl, D. (2006). *Genetic Algorithm Approaches for the Phylogenetic Analysis of Large Biological Sequence Datasets Under the Maximum Likelihood Criterion*. Tesis de Doctorado, The University of Texas, Austin, Texas. 115 p.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL

El conocimiento de la historia evolutiva entre grupos de taxa es un elemento esencial para investigar procesos macroevolutivos. Por ello, toda la información contenida en los árboles filogenéticos es relevante para entender las relaciones de parentesco, la historia evolutiva, patrones biogeográficos, procesos de especiación y extinción, entre otros.

Para la familia Bromeliaceae existen a la fecha 33 estudios filogenéticos (Cuadro II.1), cuyo muestreo representa el 21.69 % (726 spp., Cuadro II.2) de la diversidad de la familia (3346 spp; Luther, 2012). Estos estudios filogenéticos se han realizado principalmente para inferir relaciones de parentesco, proponer sistemas de clasificación naturales (i.e. Givnish *et al.*, 2007) y estudiar la evolución de caracteres morfológicos (Matallana, 2010; Hornung-Leoni y Sosa, 2008; Granados, 2008; Schulte y Zizka, 2008; Crayn *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 1997; Terry *et al.*, 1997). Así como para comprender la historia biogeográfica de la familia (Givnish *et al.*, 2011, 2007).

Sin embargo, a pesar de los avances logrados, todavía hacen falta más estudios que permitan inferir con mayor detalle muchas relaciones intra-familiares, por ejemplo, a nivel de subfamilia, resalta que Lindmanioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae y Navioideae han sido poco estudiadas. A nivel de género, de los 58 géneros reconocidos para la familia (Luther, 2012), son monofiléticos: *Brocchinia* Schult. f., *Alcantarea* (E. Morren ex Mez) Harms, *Catopsis* Griseb., *Glomeropitcairnia* (Mez) Mez, *Guzmania* Ruiz & Pav., *Werauhia* J.R. Grant, *Hechtia* Klotzsch, *Steyerbromelia* L.B. Sm., *Fosterella* L.B. Sm., *Puya* Molina, *Ananas* Mill., *Araeococcus* Brongn., *Bromelia* L. y *Acanthostachys* Link, Klotzsch & Otto). El resto de los géneros parecen ser no monofiléticos en los estudios publicados a la fecha. Esclarecer estas relaciones es importante pues permitirá inferir procesos macroevolutivos con mayor precisión. De hecho, por el momento, tal vez uno de los mayores retos de la investigación sistemática es la circunscripción y la comprensión de las relaciones filogenéticas a niveles cercanos a género.

Considerando que la construcción de árboles filogenéticos integrales y lo más resueltos posibles es de suma importancia en los estudios evolutivos, es necesario tener más taxa representados en las filogenias de la familia Bromeliaceae, una situación que permitiría inferir con mayor detalle las relaciones intra-familiares, y proponer hipótesis macroevolutivas más robustas.

Como la construcción de árboles filogenéticos integrales es de suma importancia en los estudios evolutivos, el uso de métodos de superárbol para la reconstrucción de hipótesis

filogenéticas más incluyentes, es una alternativa para integrar la información disponible. Debido a que este método es capaz de ensamblar los árboles filogenéticos existentes menos completos, en una filogenia más incluyente, de una manera coherente, certera y, en algunos casos, expedita.

El uso del método de superárbol como herramienta para integrar las hipótesis filogenéticas de la familia Bromeliaceae en una filogenia más inclusiva, requirió el desarrollo de una estrategia experimental para comparar el desempeño de nueve métodos de superárbol (Avcon, MSS, MinFlip, MMC, MRP, PhySIC_IST, Robinson-Foulds Supertree, Sfit y Superfine) utilizando como árboles fuente filogenias de Bromeliaceae. Además se valoró el cumplimiento de las propiedades deseables propuestas por Steel *et al.* (2000) y Wilkinson *et al.* (2007, 2004), para los métodos de superárbol, esto fue clave pues no existen estudios que valoren dichas propiedades con datos empíricos. El desarrollo de esta metodología generó, un marco en el cual fue posible decidir, entre los métodos analizados, cuál es el mejor para el caso de la familia Bromeliaceae.

Buerki *et al.* (2011) sugieren el uso de un cladograma derivado de una supermatriz ("hipótesis nula") para evaluar comparativamente los superárboles resultantes. Bajo el supuesto que el enfoque de supermatriz (y el árbol resultante) es la mejor aproximación que se tiene, debido a que actualmente es imposible estimar la "verdadera" filogenia de un grupo. Por lo tanto, se compararon los superárboles resultantes con un árbol generado a partir de una supermatriz, que fue construida con caracteres moleculares y analizada bajo el criterio de ML, con la finalidad de determinar que métodos de superárbol pueden reflejar mejor la información contenida en los árboles fuente, e indirectamente en la supermatriz.

Al comparar los superárboles generados por cada método utilizando la prueba de Shimodaira y Hasegawa (SH), el coeficiente de distancia patristica (PDC), partición métrica normalizada (NPM) y los valores de soporte cualitativo (rQS), se encontró que el superárbol generado con Superfine fue el más confiable (Cuadro III.3). Sin embargo, debido a la falta de solapamiento entre las filogenias de la familia (Figura III.2), fue posible construir un superárbol con sólo cuatro filogenias. No obstante, a la fecha es la hipótesis filogenética más inclusiva para la familia. Al valorar el cumplimiento de las propiedades que deben satisfacer las variantes del método de superárbol, se encontró que MRP, MMC, Superfine, PhySIC_IST y MinFlip cumplen con la mayoría de éstas.

El método de superárbol ha sido aplicado en un amplio rango de análisis ecológicos y evolutivos (Gittleman *et al.*, 2004; Bininda-Emonds *et al.*, 2002). Por ejemplo, para estudiar la evolución de caracteres (Stoner *et al.*, 2003), para cambios en las tasas de cladogénesis (Bininda-Emonds *et al.*, 1999; Paradis, 1998; Purvis, 1995), entre otros. En el caso de la

familia Bromeliaceae, la hipótesis construida con el método del superárbol, permitió abordar el estudio de evolución de caracteres de historia de vida para el grupo.

A partir de la hipótesis filogenética del superárbol y con los resultados del análisis de evolución de caracteres, se sostiene la hipótesis de Smith (1934) y otros autores (Matallana, 2010; Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000). En este sentido, los primeros miembros de familia posiblemente eran terrestres, con flores hermafroditas, autocompatibles, con semillas barocoras (Figuras IV.1–IV.5). La hipótesis biogeográfica de la familia, sugiere que las bromelias ancestrales tuvieron su origen en ambientes méxicos y hábitats pobres en nutrientes, y a partir de esas condiciones, radiaron a ambientes semi-xéricos y xéricos (Givnish *et al.*, 2007; Smith, 1934). En los últimos años del Terciario, se dieron cambios climáticos y geológicos que posiblemente influyeron en la transición hacia el CAM y el hábito epífita en la familia (Givnish *et al.*, 2007; Crayn *et al.*, 2004; Benzing, 2000; Smith, 1934).

En cuanto a las tendencias de evolución de los caracteres de historia de vida seleccionados para este estudio; se encontró que el hábito, la ruta fotosintética y el síndrome de dispersión de semillas presentes en las bromelias, han evolucionado de manera rápida, y su evolución se concentra en los nodos ancestrales de los linajes existentes (Cuadro IV.4). Es posible que episodios de especiación dentro de la familia Bromeliaceae, estén asociados a la evolución de estos caracteres. Es decir, que hubo procesos de especiación rápidos (modelo de equilibrio puntuado; Hernández, 1998) que quizá estuvieron asociados con la aparición, en las bromelias ancestrales, de uno o varios de los siguientes caracteres: el hábito epífita, la ruta fotosintética CAM y semillas anemocoras, autocoras o zoocoras.

La evolución del síndrome de polinización y sistema sexual ha sido de manera gradual, y los cambios evolutivos probablemente han sido recientes. Es decir, los cambios evolutivos en la familia, referentes a estos dos caracteres han ocurrido de manera lenta y constantes (Hernández, 1998). Este resultado se esperaba, pues de acuerdo con la literatura, estos caracteres están influenciados de manera significativa por el ambiente donde crecen (Ægisdóttir *et al.*, 2007; Raffl *et al.*, 2007; Cruden, 1977).

Las Bromeliaceae ejemplifican una radiación extrema (Benzing 2000), pues esta familia incluye varios clados ricos en especies. Del total de las especies que conforman esta familia, la mayoría se concentra en ocho géneros (*Aechmea*, *Dyckia*, *Guzmania*, *Neoregelia*, *Pitcairnia*, *Puya*, *Tillandsia* y *Vriesea*), que pertenecen a cuatro subfamilias: Bromelioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae y Puyoideae (Luther, 2012; Givnish *et al.*, 2007).

Los valores de las tasas de diversificación obtenidas con el método de Magallón y Sanderson (2001), sugieren una tasa de diversificación alta para Bromelioideae ($r_{0.0} = 0.69$, $r_{0.9} = 0.50$;

Cuadro IV.5), seguida de Pitcairnioideae ($r_{0,0} = 0.48$, $r_{0,9} = 0.34$); mientras que la tasa más baja la presenta la subfamilia Brocchinioideae ($r_{0,0} = 0.17$, $r_{0,9} = 0.07$), seguida de Hechtioideae ($r_{0,0} = 0.33$, $r_{0,9} = 0.18$).

Es posible observar, que el habito epífita, la ruta fotosintética CAM, la polinización por aves y la anemocoria. Así, como la dispersión activa de la planta (semillas autocoras) o por animales (semillas zoocoras), son caracteres que podrían estar asociados a la diversificación de las subfamilias (Figuras IV.1–IV.5). La importancia de estos caracteres en la diversificación de la familia también ha sido sugerida por otros autores (Givnish *et al.*, 2011, 2007; Matallana, 2010; Benzing, 2000).

En las subfamilias Bromelioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae y Puyoideae, los procesos de cladogénesis posiblemente fueron promovidos por oportunidades ecológicas, que podrían haber sido consecuencia de los cambios climáticos del Mioceno; así, como por transiciones hacia nuevas zonas de adaptación o la colonización de nuevos sitios (Givnish *et al.*, 2011). En las subfamilias Brocchinioideae, Lindmanioideae y Navioideae, al mantener su distribución geográfica restringida al Escudo Guayanés, es posible que su diversificación se esté dando bajo procesos que promuevan la conservación de nicho, debido a que estas especies están bien adaptadas a vivir en esos lugares (Ackerly, 2009).

En cuanto a la tasa de diversificación de la familia Bromeliaceae ($r_{0,0} = 0.39$, $r_{0,9} = 0.30$; Cuadro IV.5), los valores sugieren que su diversificación es elevada, quizá estos valores reflejen la diversificación reciente del clado (ca. 19 millones de años; Givnish *et al.*, 2011), la exitosa diversificación de la familia, podría estar asociada a la aparición del habito epífita, CAM y síndromes de dispersión de semillas por viento o como proyectiles o con ayuda de animales. Los cambios evolutivos en los sistemas sexuales y los síndrome de polinización han sido recientes, y posiblemente las transiciones evolutivas estén asociadas con los sitios que van colonizando.

BIBLIOGRAFÍA

- Ackerly, D. D. (2009). Conservatism and diversification of plant functional traits: Evolutionary rates versus phylogenetic signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 19699–19706.
- Ægisdóttir, H. H., D. Jespersen, P. Kuss y J. Stocklin. (2007). No inbreeding depression in an outcrossing alpine species: the breeding system of *Campanula thyrsoides*. *Flora*, 202: 218–225.

- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 690 p.
- Bininda-Emonds, O., J. Gittleman y M. Steel (2002). The (Super)Tree of Life: Procedures, Problems, and Prospects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 265–289.
- Bininda-Emonds, O. P., J. Gittleman y M. Steel (1999). Building large trees by combining phylogenetic information: a complete phylogeny of the extant Carnivora (Mammalia). *Biological Reviews*, 74: 143–175.
- Buerki, S., F. Forest, N. Salamin y N. Alvarez (2011). Comparative Performance of Supertree Algorithms in Large Data Sets Using the Soapberry Family (Sapindaceae) as a Case Study. *Systematic Biology*, 60: 32–44.
- Crayn, D., K. Winter y J. Smith (2004). Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology*, 101: 3703–3708.
- Cruden, R. (1977). Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32–46.
- Gittleman, J., K. Jones y S. Price (2004). Supertrees: using complete phylogenies in comparative biology. En O. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 429–460. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Givnish, T., M. Barfuss, B. Van Ee, R. Riina, K. Schulte, R. Horres, P. Gonsiska, R. Jabaily, D. Crayn, J. Smith, K. Winter, G. Brown, T. Evans, B. Holst, H. Luther, W. Till, G. Zizka, P. Berry y K. Sytsma (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98: 1–24.
- Givnish, T., K. Millam, P. Berry y K. Sytsma (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso*, 23: 3–26.
- Givnish, T., K. Sytsma, J. Smith, W. Hahn, D. Benzing y E. Burkhardt (1997). Molecular evolution and adaptive radiation in *Brocchinia* (Bromeliaceae: Pitcairnioideae) atop Tepuis of the Guayana Shield. En G. T.J. y K. Sytsma (eds.) *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*, pp. 259–311. Cambridge University Press, Cambridge, USA.

- Granados, C. (2008). *Sistemática del Complejo Tillandsia macdougallii (Bromeliaceae)*. Tesis de Maestría, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 75 p.
- Hernández, C. (1998). *La Teoría del Equilibrio Puntuado como una Aportación a la Teoría Evolutiva*. Biología Experimental. UAM-Unidad Ixtapalapa, México D.F., México, 35 p.
- Hornung-Leoni, C. y V. Sosa (2008). Morphological phylogenetics of *Puya* subgenus *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156: 93–110.
- Luther, H. (2012). *An Alphabetical List of Bromeliad Binomials*. Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International, Sarasota, USA, 44 p.
- Magallón, S. y M. Sanderson (2001). Absolute diversification rates in Angiosperm clades. *Evolution*, 55: 1762–1780.
- Matalana, T. (2010). *Sistemas Reproductivos, Ecología da Polinização e Hibridização em Bromeliaceae numa perspectiva local à evolutiva*. Tesis de Doctorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 197 p.
- Paradis, E. (1998). Detecting shifts in diversification rates without fossils. *The American Naturalist*, 152: 176–188.
- Purvis, A. (1995). A modification to Baum and Ragan's method for combining phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 44: 251–255.
- Raffl, C., S. Marcante y B. Erschbamer (2007). The role of spontaneous selfing in the pioneer species *Saxifraga aizoides*. *Flora*, 202: 128–132.
- Schulte, K. y G. Zizka (2008). Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. *Candollea*, 63: 209–255.
- Smith, L. (1934). Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 66: 446–465.
- Steel, M., A. Dress y S. Böcker (2000). Simple but fundamental limitations on supertree and consensus tree methods. *Systematic Biology*, 49: 363–368.
- Stoner, C., O. P. Bininda-Emonds y T. Caro (2003). The adaptative significance of coloration in lagomorphs. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79: 309–328.

- Terry, R., G. Brown y R. Olmstead (1997). Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany*, 84: 664–670.
- Wilkinson, M., J. Cotton, F. Lapointe y D. Pisani (2007). Properties of Supertree Methods in the Consensus Setting. *Systematic Biology*, 56: 330–337.
- Wilkinson, M., J. Thorley, D. Pisani, F. Lapointe y J. McInerney (2004). Some desiderata for liberal supertree. En O. Bininda-Emonds (ed.) *Phylogenetic Supertrees: Combining Information to Reveal the Tree of Life*, pp. 227–246. Kluwer Academic Press, Dordrech, The Netherlands.

Matriz de estados de carácter utilizada para la reconstrucción de la evolución de los caracteres presentados en el capítulo IV

Acanthostachys strobilacea 01002 *Aechmea allenii* 00112 *Aechmea bromeliifolia* 01122 *Aechmea drakeana* 01112 *Aechmea haltonii* 01102 *Aechmea lingulata* 01102 *Aechmea nudicaulis* 01112 *Aechmea organensis* 01112 *Aechmea racinae* 01122 *Aechmea sphaerocephala* 01122 *Alcantarea duarteana* 02031 *Ananas ananassoides* 00102 *Ananas nanus* 00112 *Andrea selleana* 0211 2 *Araeococcus goeldianus* 01102 *Araeococcus pectinatus* 01102 *Billbergia decora* 01112 *Billbergia macrolepis* 01102 *Brewcaria reflexa* 00000 *Brocchinia acuminata* 00000 *Brocchinia micrantha* 00000 *Brocchinia paniculata* 00000 *Brocchinia prismatica* 00000 *Brocchinia uaipanensis* 00030 *Bromelia chrysantha* 00102 *Bromelia flemingii* 00112 *Canistropsis billbergioides* 01102 *Canistrum aurantiacum* 01112 *Canistrum giganteum* 01112 *Catopsis floribunda* 11001 *Catopsis montana* 11001 *Catopsis wangerinii* 11001 *Connellia nutans* 00000 *Cottendorfia florida* 02000 *Cryptanthus beuckeri* 20102 *Deinacanthos urbanianum* 00102 *Deuterocohnia glandulosa* 02100 *Deuterocohnia longipetala* 02111 *Deuterocohnia lorentziana* 02110 *Deuterocohnia lotteae* 02110 *Deuterocohnia meziana* 02110 *Dyckia dawsonii* 02100 *Dyckia ferox* 02100 *Dyckia hilaireana* 02100 *Edmundoa perplexa* 01102 *Encholirium inerme* 02130 *Encholirium irwinii* 02130 *Encholirium scrutator* 02130 *Fascicularia bicolor* 00012 *Fosterella penduliflora* 00000 *Fosterella petiolata* 00000 *Fosterella rusbyi* 00000 *Fosterella villosula* 00000 *Glomeropitcairnia penduliflora* 01010 *Greigia sphacelata* 00012 *Guzmania monostachia* 01011 *Guzmania rhonhofiana* 01001 *Guzmania roezlii* 01021 *Guzmania wittmackii* 01001 *Hechtia glabra* 10100 *Hechtia glomerata* 10100 *Hechtia guatemalensis* 10100 *Hechtia lindmanioides* 10100 *Hechtia lundelliorum* 10100 *Hohenbergia disjuncta* 01122 *Hohenbergia stellata* 00112 *Lindmania guianensis* 00 000 *Lindmania longipes* 00000 *Lymania alvimii* 01102 *Mezobromelia hutchisonii* 01011 *Mezobromelia pleiosticha* 01011 *Navia igneosicola* 02010 *Navia phelpsiiae* 02010 *Navia saxicola* 02000 *Navia splendens* 02010 *Neoregelia pineliana* 00112 *Ochagavia carnea* 02012 *Ochagavia elegans* 02012 *Orthophytum gurkenii* 02102 *Pitcairnia corallina* 01011 *Pitcairnia atrorubens* 01011 *Pitcairnia beachiae* 00011 *Pitcairnia burle-marxii* 00011 *Pitcairnia carinata* 00011 *Pitcairnia feliciana* 00011 *Pitcairnia heterophylla* 00011 *Pitcairnia hirtzii* 00011 *Pitcairnia orchidifolia* 00011 *Pitcairnia poortmanii* 00011 *Pitcairnia recurvata* 00011 *Pitcairnia rubro-nigriflora* 00011 *Pitcairnia squarrosa* 00011 *Pitcairnia wendlandii* 00011 *Pseudananas sagenarius* 00142 *Puya aequatorialis* 00110 *Puya alpestris* 00110 *Puya castellanosi* 00110 *Puya chilensis* 00110 *Puya floccosa* 00110 *Puya humilis* 00110 *Puya laxa* 00110 *Puya mima* 00110 *Puya raimondii* 00110 *Puya venusta* 00110 *Quesnelia marmorata* 01112 *Quesnelia quesneliana* 00112 *Racinaea fraseri* 01001 *Racinaea ropalocarpa*

01001 *Sequencia serrata* 00000 *Tillandsia complanata* 01111 *Tillandsia dodsonii* 01101 *Tillandsia usneoides* 01101 *Tillandsia utriculata* 01111 *Tillandsia viridiflora* 01101 *Rapatea paludosa* 00100 *Vriesea espinosae* 01111 *Vriesea glutinosa* 01031 *Vriesea malzinei* 01031 *Werauhia viridiflora* 01131 *Wittrockia leucophoea* 00102 *Wittrockia superba* 00102.