



**UNIVERSIDAD MICHOCANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE BIOLOGÍA**



FACULTAD DE
BIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Biología reproductiva y polinización de una
planta con síndrome quiropterofílico**

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A

Edgar Emilio Medina Rocha

Asesor: Dr. Eduardo Cuevas García

Coasesor: Dr. Víctor Manuel Rosas Guerrero

Morelia, Michoacán.

Junio 2024

Resumen

La polinización de las angiospermas en su mayoría se da gracias a los insectos que son el grupo más representativo en estas interacciones; sin embargo, aves y murciélagos también realizan esta función y es de gran importancia, ya que pueden transportar mayor carga de polen en comparación con los insectos y recorrer distancias mayores. Una de las especies que presenta caracteres florales asociados con polinización por murciélagos es *Merremia platyphylla*, ya que presenta flores blancas con antesis crepuscular en forma de campana con abundante producción de néctar, conocido como síndrome quiropterofílico, el cual no se ha reportado en este género. Dichos caracteres sugieren que los murciélagos contribuyen en mayor manera con el éxito reproductivo de esta planta en comparación con otros visitantes florales, los cuales pueden funcionar como polinizadores secundarios, complementando la polinización. Este trabajo describe la biología floral, incluyendo producción de volátiles florales y polinización de *Merremia platyphylla* (Convolvulaceae), con el fin de evaluar ... La antesis floral comenzó a las 17:30 h, permaneciendo abiertas durante 12 a 15 h. La producción de néctar fue abundante, con un volumen promedio de 103 μ L y una concentración media de azúcares de 25.8 °Bx. De acuerdo con los tratamientos de polinización y exclusiones, se encontró que es una especie autoincompatible, cuya mayor producción de frutos fue resultado de la polinización nocturna. Los visitantes florales nocturnos observados fueron murciélagos (subfamilia *Glossophaginae*), abejas (*Apis mellifera* y *Trigona fulviventris*), colibríes (*Amazilia rutila* y *Cynanthus doubledayi*) y dos especies de lepidópteros, tanto diurnos como nocturnos.

Este trabajo representa el primer reporte de visita y polinización por murciélagos en una especie de este género. Sin embargo, debido a que la máxima producción de néctar ocurre antes del pico de actividad de los murciélagos y a que los volátiles florales no corresponden con los de otras especies visitadas por murciélagos, otros visitantes florales pueden fungir ...

Abstract

The pollination of angiosperms is mostly due to insects, which are the most representative group in these interactions; however, birds and bats also perform this function and it is of great relevance, since they can carry a greater load of pollen compared to insects and travel larger distances. Recent observations suggest that *Merremia platyphylla* shows a chiropterophilic syndrome, which has not been reported in the genus as far as we know. *Merremia platyphylla* has white flowers with bell-shaped crepuscular anthesis with abundant nectar production, so it is expected that bats contribute significantly to its reproductive success compared to other guilds, which may function as secondary pollinators, complementing pollination. This study addresses the reproductive biology, pollination and floral volatiles of *Merremia platyphylla* (Convolvulaceae). Floral anthesis begins at 17:30 hours and flowers remain open between 12 and 15 hours. According to the pollination treatments and exclusions, we can affirm that it is a self-incompatible species and that the highest fruit production was the result of nocturnal pollination. The main floral visitors observed were bats (subfamily Glossophaginae), *Apis mellifera*, *Trigona fulviventris*, *Amazilia rutila* and two species of Lepidoptera, both diurnal and nocturnal. Nectar production was abundant, with an average volume of 103 μ L and a mean sugar concentration of 25.8 °Bx, the peak of nectar production occurs before bat activity and floral volatiles do not correspond with those of other species visited by bats.

This work highlights the role of bats in the pollination of *M. platyphylla* as it is a self-incompatible species and represents the first report of bat visitation and pollination in *Merremia*. However, maximum nectar production occurs before bat activity and floral volatiles do not correspond to those of other species visited by bats, so not all characteristics correspond to the chiropterophilic syndrome.

Introducción

La polinización de las angiospermas es un proceso esencial para el éxito reproductivo de las plantas (Paul et al., 2023). Esta se define como el transporte de los granos de polen desde las anteras hasta el estigma de la misma flor o de otra flor. En gran medida, este proceso ocurre con la participación de animales, lo que se conoce como polinización biótica (Young, 2002; Fleming et al., 2009; Amorim et al., 2012). Mientras las plantas se benefician de la fertilización de sus óvulos, los animales que participan en estas interacciones, generalmente obtienen alimento, principalmente polen o néctar (Varassin et al., 2008).

Las angiospermas han desarrollado un conjunto de rasgos florales específicos como la morfología, el color, el olor, la antesis y la producción de néctar, que les permiten atraer ciertos polinizadores. Estos conjuntos de características florales, conocidos como síndromes de polinización o síndromes florales (Fenster et al., 2004; Ollerton et al., 2009; Rosas-Guerrero et al., 2014), pueden utilizarse para inferir qué polinizadores pueden ser atraídos por especies de plantas particulares (Van der Pijl, 1961). Sin embargo, se han planteado algunas críticas a este concepto, ya que las flores pueden atraer un espectro más amplio de visitantes de lo que inicialmente se esperaría (Fenster et al., 2004; Ollerton et al., 2007). No obstante, una revisión reciente (Rosas-Guerrero et al., 2014) respalda la propuesta de los síndromes de polinización, indicando que la evolución floral convergente está fuertemente impulsada por la adaptación al grupo funcional de polinizador más efectivo. En este sentido, Stebins (1970) propuso el principio del “polinizador más efectivo”, donde argumenta que las plantas han desarrollado sus características florales para atraer al polinizador más eficiente para aumentar la adecuación de las plantas. De manera complementaria, los polinizadores secundarios pueden desempeñar un papel importante en la reproducción de las plantas

cuando los polinizadores primarios están ausentes o escasean y, a menudo, corresponden al grupo de polinizadores ancestrales (Rosas-Guerrero et al., 2014).

La mayoría de las interacciones de polinización involucran a los insectos, especialmente a especies de abejas de la familia *Apidae*, como las abejas melíferas y los abejorros, quienes son reconocidos como unos de los principales grupos de polinizadores de las angiospermas (Fleming et al., 2009; Winfree et al., 2011). No obstante, los murciélagos también desempeñan un papel crucial en este proceso, debido a que pueden transportar una mayor carga de polen en comparación con los insectos y pueden recorrer mayores distancias (Fleming et al., 2009; Muchhala y Thomson, 2010). Los murciélagos polinizadores son especies nectarívoras pertenecientes a la subfamilia Glossophaginae, compuesta por alrededor de 38 especies (von Helversen y Winter, 2003; Fleming y Muchhala, 2008). A diferencia de los insectos, los murciélagos tienden a visitar flores más grandes, que generalmente producen una mayor cantidad de néctar, ya que estos vertebrados tienen mayores requerimientos energéticos. Como resultado, las plantas suelen incurrir en costos más elevados para atraer y recompensar a los murciélagos, pero los beneficios de la polinización pueden ser muy positivos para la adecuación de las plantas (Fleming et al., 2009), al promover la polinización cruzada y la gran cantidad de polen que depositan (Tremlett et al., 2020).

Dar y colaboradores (2006) evaluaron la efectividad de los polinizadores nocturnos y diurnos en la reproducción del cactus columnar *Marginatocereus marginatus*, el cual presenta flores rojas que permanecen abiertas tanto de día como de noche. Los resultados mostraron que las flores fueron visitadas por tres especies de colibríes, dos de murciélagos y una especie de polilla, pero solo los murciélagos y colibríes transportaban polen en sus cuerpos y presentaba fuerte limitación de polen cuando faltaba uno de los gremios de

polinizadores, concluyendo que *M. marginatus* presenta un sistema de polinización mixto, lo cual asegura la polinización del cactus debido a la baja abundancia de colibríes y la intensa competencia con otros cactus por los servicios de polinización de los murciélagos. Asimismo, otros estudios han reportado que tanto los colibríes como los murciélagos visitan frecuentemente las mismas especies de angiospermas (Young, 2002; Dar et al., 2006; Fleming y Muchhala, 2008; Muchhala y Thomson 2010), siendo los murciélagos los polinizadores más efectivos en la mayoría de los estudios (e.g., Muchhala et al., 2009; Muchhala y Thomson, 2010; Queiroz et al., 2016). Esta mayor eficiencia se atribuye a que el pelaje de los murciélagos puede retener más polen en comparación con las plumas de los colibríes, donde el polen tiende a desprenderse más fácilmente.

El aroma floral juega un papel relevante en las flores polinizadas por murciélagos, ya que éstos pueden detectarlo a largas distancias (Raguso, 2004; González-Terrazas et al., 2016). Los compuestos volátiles que atraen a los murciélagos suelen contener azufre, como el disulfuro de dimetilo (Von Helversen et al., 2000), y otros componentes como el benzoato de metilo (González-Terrazas et al., 2016), mientras que las flores polinizadas por aves generalmente no emiten aromas. Varassin y colaboradores (2001) estudiaron la polinización de cuatro especies de *Passiflora* (Passifloraceae), mostrando que aquellas polinizadas por abejas y murciélagos presentaban mayor abundancia en compuestos volátiles, mientras que las polinizadas por colibríes eran nulos o imperceptibles. Considerando todo lo anterior, se ha propuesto que las diferencias en color, morfología, antesis, producción de néctar y aroma floral, entre otros caracteres, contribuyen en la especialización hacia ciertos tipos de polinizadores y a la diversidad de los sistemas de polinización, principalmente en plantas tropicales.

Una de las familias de plantas que exhiben gran diversidad de características morfológicas, la familia Convolvulaceae (Stefanović et al., 2002), comprende alrededor de 60 géneros y 1 900 especies que se distribuyen por todo el mundo, principalmente en zonas tropicales (Mabberley, 1987; Simões y Staples, 2017). Estas plantas son visitadas por diferentes tipos de polinizadores, tales como abejas, escarabajos, mariposas diurnas, esfingidos, colibríes y murciélagos (McDonald, 1991; Galetto y Bernardello, 2004; Rosas-Guerrero et al., 2011). Dentro de esta familia, el género *Merremia* que se distribuye en zonas tropicales y subtropicales (Demissew, 2001; Olatunji et al., 2021), incluye plantas trepadoras con flores con corola en forma de campana generalmente blancas o amarillas y con anteras retorcidas en forma de espiral (Lakshminarayana y Raju, 2018). En este género se ha documentado la polinización por abejas en *M. cissoides*, *M. aegyptia*, *M. macrocalyx*, *M. dissecta*, *M. tridentata*, y *M. umbellata* (Maimonia-Rodella y Rodella, 1987; Kill y Ranga, 2000; Raimúndez-Urrutia et al., 2008; Paz y Pigozzo, 2013; Lakshminarayana y Raju, 2018; Paul et al., 2023), así como visitas por colibríes y polinización por esfingidos (Willmott y Burquez, 1996) en *M. palmeri*, una especie autoincompatible. Hasta el momento, no se ha reportado el síndrome de quiropterofilia en el género (Tabla 1), así como ningún registro de visitas de murciélagos en el género.

Merremia platyphylla presenta flores blancas grandes acampanadas que se encuentran expuestas con abundante producción de néctar y con antesis crepuscular (observación personal), lo cual corresponde con el síndrome de quiropterofilia. En el presente trabajo se determinó el sistema de polinización y la biología reproductiva de *Merremia platyphylla* (Convolvulaceae), con el fin de ...

Hipótesis

Dado que las características florales de *Merremia platyphylla* se asocian con un síndrome de polinización quiropterofílico, se espera que los murciélagos sean el grupo funcional de polinizadores más efectivo para esta especie. en comparación con los colibríes, los cuales se espera que actúen como polinizadores secundarios y puedan complementar la polinización.

Objetivo General

Evaluar efectividad de los distintos visitantes florales, así como la biología reproductiva y los compuestos volátiles florales de *Merremia platyphylla* en poblaciones naturales.

Objetivos particulares

- Identificar a los visitantes florales mediante observaciones directas, filmaciones y captura de ejemplares con redes de niebla.
- Realizar experimentos de polinización y exclusiones para evaluar la efectividad de visitantes diurnos y nocturnos en la adecuación de *M. platyphylla*.
- Determinar la producción de néctar durante la vida de las flores y su posible relación con la tasa de visitas.
- Identificar los compuestos volátiles que producen las flores de *M. platyphylla*, y su posible relación con los polinizadores y visitantes florales.

Materiales y métodos

Especie de estudio

Merremia platyphylla Fernald O'Donell, es una planta anual, trepadora de flores blancas solitarias (Figura 1A), con corola de 4–6 cm de longitud y de 6-7.5 cm de diámetro, tubo floral de 38 mm de longitud y 15 mm de ancho. Es glabra exteriormente y con líneas notables al centro de los pétalos, desde el ápice hasta la base (Figura 1A). Los estambres están poco insertos y son iguales con filamentos glandulosos en la base de 35 a 39 mm de longitud y anteras retorcidas helicoidalmente de 10 a 13 mm de longitud con polen elipsoidal (Figura 1C). El pistilo posee un estilo de 41 a 45 mm de longitud y ovario con dos lóculos y 4 óvulos. Los frutos son en forma de cápsula (Figura 1B), acompañada por sépalos ampliados y separados, en la cara interna presenta pequeños orificios glandulares y presentan dehiscencia longitudinal con 1 o 2 semillas oscuras con pubescencia fina, aterciopelada (O'Donell, 1941; Austin y Pedraza, 1983), aunque se han encontrado frutos hasta con 4 semillas (observación personal). Tiene tallos cilíndricos y lisos, aproximadamente 5-7 mm de ancho. Presenta hojas con 5 foliolos con peciolo de 2 a 4 cm de longitud. Se pensaba que era endémica del estado de Guerrero, sin embargo, se han encontrado registros en Puebla (IBUNAM), Morelos y Oaxaca. En las poblaciones de estudio, se ha observado que la floración ocurre desde fin de noviembre hasta fin de abril.

A)
B)

Figura 1. Morfología de flor y fruto de *Merremia platyphylla*. **A)** Aspecto de la flor al momento de la apertura floral. **B)** Frutos maduros donde se distinguen los sépalos secos y separados. **C)** Corte longitudinal de la flor al momento de la apertura floral donde se observa el contacto que hay entre las anteras retorcidas y el estigma globoso.

Sitio de estudio

El estudio se realizó en el municipio de Tecpán de Galeana, Guerrero, México (Figura 2) que se encuentra aproximadamente a 30 msnm. Las condiciones climáticas de la región son cálido

subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media-alta. La precipitación y temperatura media anual son, respectivamente de 1 050 mm y de 26 °C. En los sitios de estudio predomina la selva baja caducifolia, aunque presentan distintos grados de perturbación y antropización.

Figura 2. Ubicación de la zona de estudio.

Visitantes florales

Para identificar a los visitantes florales, se llevaron a cabo filmaciones durante los meses de febrero y marzo de 2022, así como de enero a marzo de 2023. Estas filmaciones se realizaron desde el inicio de la antesis floral hasta el final de vida de las flores, con una duración de 30 minutos cada 2 horas. En total, se filmaron 39 y 38 horas para los años 2022 y 2023, respectivamente. Los datos registrados para cada visita fueron: tipo de visitante floral, hora de visita, duración de la visita y si hacían contacto con las estructuras reproductivas de la flor.

Con la finalidad de identificar a nivel de especie los murciélagos que visitaban las flores y registrar si llevaban polen de la especie de estudio, durante los meses de enero y febrero de 2023, se colocaron 2 redes de niebla con una longitud de 6 y 10 m, cerca de las flores de *M. platyphylla*, iniciando desde la antesis floral hasta 5 h después (~23:00 h). A cada individuos capturado se les pasó por todo el cuerpo una preparación de gelatina teñida con fucsina (Beattie, 1971) para capturar los granos de polen adheridos al pelo del murciélago. Dicha gelatina se colocaba en un portaobjetos, se fijaba con fuego bajo y se cubría con cubreobjetos. Posteriormente fueron analizados con un microscopio óptico para comparar las muestras con muestras de polen de *M. platyphylla*.

En 2024 solo se realizaron observaciones directas de los visitantes florales y se registró la tasa de vistas únicamente de los visitantes que no se habían documentado durante los años anteriores.

Biología reproductiva

Los experimentos de polinización se realizaron en la floración de 2023, utilizando un total de 322 flores distribuidas en tres sitios. Con la finalidad de determinar el sistema reproductivo y evaluar los gremios de polinizadores que contribuyen a la adecuación de *Merremia platyphylla*, durante la floración de 2023 se realizaron diversos tratamientos de polinización. En caso necesario, las flores utilizadas se cubrieron con bolsas de tul para excluir a posibles visitantes. Se seleccionaron y marcaron distintos botones florales a punto de abrir, tratando de que fueran de plantas distintas y alejadas entre sí. Los tratamientos realizados fueron los siguientes: (1) polinización natural (N=30), cuyas flores no se embolsaron y se dejaron expuestas a los visitantes florales; (2) autopolinización natural (N=45), flores mantenidas embolsadas hasta su senescencia; (3) autopolinización artificial (N=30), se depositó polen de la misma flor en su estigma y posteriormente se embolsaron; (4) polinización natural diurna (N=93), flores expuestas desde la antesis (5-6 pm) y embolsadas al anochecer (7-8 pm dependiendo del sitio de estudio); (5) polinización natural nocturna (N=64), las flores estuvieron descubiertas desde su apertura (5-6 pm) y posteriormente se cubrían al amanecer (6 am); (6) exocruza (N=30), se tomó polen de diferentes individuos y se depositó en el estigma de flores de distintos individuos que fueron inmediatamente embolsados; (7) finalmente dada la alta tasa de visitas de la abeja *Apis mellifera*, se agregó un tratamiento más, se marcaron 30 flores de 5 individuos y solo se permitió la visita de *A. mellifera*, después se embolsaron y se cuantificó la producción de frutos. En los tratamientos 4, 5 y 6, las flores

se emasculaban previamente para evitar la autofecundación, dada la cercanía de las anteras con el estigma. Posteriormente, se mantuvieron embolsadas hasta la producción de los frutos. Al llegar a la madurez, se recolectaron los frutos y se pusieron a secar para facilitar la manipulación y el conteo de semillas. Los experimentos se realizaron a finales de enero y durante febrero de 2023, cerca del pico de floración.

Adicionalmente, se realizaron pruebas para determinar el momento de receptividad estigmática. Se utilizaron flores abiertas (N=24) y sumergió el estigma en peróxido de hidrogeno. La receptividad se cuantificó en 5 categorías (1-5, siendo 5 la mayor cantidad de burbujas). Cuando el estigma se cubría de burbujas, se consideraba receptivo.

Producción de néctar

La producción de néctar y su concentración se realizó durante 2023 y 2024 en 20 flores de diferentes individuos cada año utilizando el método de “cosecha en pie”. El néctar se extrajo a partir de que la flor estaba totalmente abierta (16:00-17:00 hrs), y se volvió a muestrear la misma flor cada dos horas hasta que la flor se cerró o se desprendió de la planta. Además, en enero 2024 se cuantificó la producción acumulada en flores que permanecieron embolsadas desde la antesis hasta las 02:30 horas (hora en que se registró el fin de la producción de néctar; n = 20). La extracción de néctar se hizo con tubos capilares de 20 μ L, y la concentración se calculó con un refractómetro portátil (Atago 0-50%, Japón).

Compuestos volátiles florales

Con la finalidad de determinar si las flores de *M. platyphylla* producen aromas y si éstos varían según la hora del día y/o se relacionan con la atracción de murciélagos u otros grupos, se realizó la extracción de compuestos orgánicos volátiles (COV) de las flores en los

meses de enero y febrero de 2023 en dos horarios: al momento de la antesis floral, entre 17:00–18:00 h y en otras flores a las 0:00 h en cinco repeticiones para cada horario. Las flores se colocaron en un recipiente con agua hasta el momento de la extracción (después de cortar el tallo, se esperó una hora para hacer la extracción). De manera similar, se colectaron muestras de néctar floral, para explorar la posibilidad de que éste contenga compuestos volátiles.

Debido a que se requiere un volumen de al menos 2ml, el néctar se recolectó de varias flores para completar el volumen requerido. Se tomaron 5 muestras de 2ml de néctar, colocándolas en viales separados y almacenándolas en recipientes tratando de mantener una baja temperatura, hasta el momento de la extracción. El néctar se extrajo con ayuda de capilares de 20µl. La extracción se realizó de manera similar a la descrita previamente para las flores.

La extracción de los COVs se realizó mediante un soporte universal con un frasco de vidrio de borosilicato, utilizado para aislar las flores y sellando la entrada con parafilm. El tallo de las flores siempre estuvo en contacto con el agua. El frasco se conectó a una bomba de vacío (N811KTP, KNF, Trenton, USA), mediante una manguera de silicona para laboratorio, conectada a una trampa o cartucho (*Porapak Q*, Supelco, USA) que, al ser poroso, retiene de manera eficiente los compuestos volátiles extraídos. En el otro extremo del frasco se colocó un cartucho de carbón activado para purificar el aire entrante. La duración de las extracciones fue de dos horas a un flujo constante de 266 ml/min. Posteriormente, el análisis de las muestras se realizó mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) en el laboratorio de Ecología Química de la UNAM. Antes de inyectar la muestra al cromatógrafo, esta se preparó con 2 mL hexano y se agitó durante 2 o 3 minutos en el vortex; luego se realizó la desorción, que es la concentración

de la muestra con ayuda de nitrógeno gaseoso. Finalmente, se inyectaron alrededor de 3 μ L al cromatógrafo de gases (*Agilent 6890*) acoplado a un detector selectivo de masas (*Agilent 5973*), mediante una jeringa para cromatografía. La identificación cualitativa se realizó utilizando bibliotecas de referencia del software *MSD ChemStarion*- incluido en el cromatógrafo. Para corroborar la identidad de cada uno de los compuestos volátiles se calcularon los índices de retención Kovats.

Resultados

Visitantes florales

En 2022, durante el día se observaron diferentes gremios de visitantes florales, incluyendo las abejas *Trigona fulviventrís* (Figura 4a) y *Apis mellífera* (Figura 4b), el colibrí canelo *Amazilia rutila* (Figura 4c) y una especie de lepidóptero diurno de la familia Hesperíidae (Figura 4d). Por la noche, solo se registraron visitas de murciélagos de la subfamilia Glossophaginae (Figura 4f). En 2023, además de los visitantes mencionados anteriormente, se registraron visitas de una avispa de la familia Vespidae y un lepidóptero nocturno de la familia Sphingidae (Figura 4e).

Figura 4. Visitantes florales observados en *Merremia platyphylla*. a) *Trigona fulviventrís*, b) *Apis mellífera*, c) colibrí canelo (*Amazilia rutila*), d) mariposa de la familia Hesperíidae, e) polilla de la familia Sphingidae, f) murciélago (subfamilia Glossophaginae).

En 2022, las abejas *Trigona fulviventrís* y los murciélagos destacaron por presentar la mayor tasa de visitas por flor, con una tasa de visita de 0.40 y 0.39 , respectivamente, mientras que *Apis mellífera*, la mariposa diurna y el colibrí canelo mostraron una tasa de

visita menor (Figura 5). En 2023, *Apis mellifera* fue la especie con la mayor tasa de visitas (0.80; Figura 5). En ese año, aunque el colibrí no fue registrado en las filmaciones, se observaron de manera directa. En 2024, el colibrí tuvo una tasa de visitas de 0.48, incluso se observó visitando botones florales. Durante estas observaciones también se registraron visitas de la polilla y otra especie de colibrí (*Cynanthus doubledayi*), con una tasa de visita de 0.38 y 0.13, respectivamente (Figura 4).

De acuerdo con las observaciones directas y el análisis de los videos, las abejas, colibríes y murciélagos tuvieron contacto con las estructuras reproductivas de *M. platyphylla* la mayoría de las veces, mientras que los lepidópteros mostraron un contacto poco frecuente con las estructuras reproductivas de las flores.

De 18 murciélagos nectarívoros capturados, cinco transportaban polen de *Merremia platyphylla* en su cuerpo.

Figura 5. Visitantes florales observados y tasa de visitas por flor por especie de visitante floral durante el periodo de floración 2022 y 2023.

Figura 6. Porcentaje de visitantes florales observados en 2022 y 2023.

Biología reproductiva

Durante 2022, la antesis floral comenzó aproximadamente a las 17:00 h y en enero de 2023, entre las 17:30 y 18:30 h. En promedio, la longevidad de las flores fue de 12 h, aunque en 2023 algunas flores permanecieron abiertas hasta por 15 h. La receptividad estigmática está

presente desde el momento de la antesis (18:00 h) hasta ... Desde el momento de la antesis las estructuras reproductivas están en constante roce (Figura 1).

Las flores excluidas de los polinizadores, tanto las de autopolinización autónoma como las de autopolinización artificial no produjeron frutos, lo que indica que se trata de una especie autoincompatible y dependiente de los polinizadores para la producción de frutos. Las flores expuestas solo a visitas de *Apis mellifera* tampoco produjeron frutos. En el tratamiento de polinización diurna, se observó una fructificación, de 24%, mientras que en la polinización nocturna fue de 50%. En las flores exocruzadas manuales se obtuvo una tasa de fructificación de 80% mientras que la tasa de fructificación de las flores de polinización natural fue de 30% (Figura 7), lo que indica que presenta limitación de polinizadores. Desafortunadamente, no se pudo realizar la colecta de los frutos maduros ni el conteo de semillas de los tratamientos de exocruzadas y polinización natural (control), ya que los sitios de trabajo fueron quemados.

Figura 7. Proporción de flores que pasaron a frutos en los experimentos de polinización y las exclusiones realizadas en la floración de 2023.

Producción de néctar

En 2023, el pico de producción de néctar se registró alrededor de las 18:30 h, con volumen promedio de 99.3 ± 2.9 μ L y una concentración promedio de azúcares de 25.7 ± 0.4 °Brix. La producción promedio de néctar durante todo el tiempo de vida de las flores fue de 59.1 ± 3.6 μ L, con una concentración de 21.8 ± 0.2 °Brix (Figura 8). Para el 2024, el pico de producción de néctar también se observó alrededor de las 18:30 h, con un volumen promedio

de $106.7 \pm 4.6 \mu\text{L}$ y una concentración promedio de azúcares de $26 \pm 0.2 ^\circ\text{Brix}$ (Figura 9). Además, en 2024 la producción de néctar acumulada durante todo el tiempo de vida de las flores, fue de $328 \pm 24.5 \mu\text{L}$ y una concentración de $24 \pm 0.1 ^\circ\text{Brix}$ (N=20).

Figura 8. Producción de néctar durante el tiempo de vida de las flores de *Merremia platyphylla* en el periodo de floración enero – febrero 2023.

Figura 9. Producción de néctar durante el tiempo de vida de las flores de *Merremia platyphylla* en el periodo de floración enero 2024.

Compuestos volátiles florales

Se identificaron un total de nueve compuestos volátiles florales, de los cuales seis estuvieron presentes en todas las flores utilizadas (extracciones diurnas y nocturnas), así como en el néctar. El compuesto más abundante fue el benzene, 1-ethenyl-3-ethyl, seguido por 4-ethylacetophenone, benzaldehído, limoneno, δ -elemene y α -pineno (Figura 10). En cuanto al número de compuestos reportados por muestra, fue mayor en las flores de las extracciones de la tarde (9), seguido de los emitidos en las flores nocturnas (8) y en el néctar (6). En las extracciones de la tarde, los compuestos volátiles florales más abundantes fueron el benzaldehído y δ -elemene, mientras que en las nocturnas fueron el benzene, 1-ethenyl-3-ethyl y 4-ethylacetophenone, coincidiendo también con el néctar, junto con el benzaldehído.

Figura 10. Proporción de los compuestos volátiles florales emitidos por *Merremia platyphylla* durante la tarde y la noche, así como en el néctar.

DISCUSIÓN

El presente trabajo representa el primer reporte de visita y evidencia de polinización efectiva de murciélagos en una especie del género *Merremia*. Asimismo, nuestros datos soportan la hipótesis de los síndromes florales, ya que ...

Hasta el momento, en el género solo se había registrado polinización por abejas (Maimoni-Rodella y Rodella, 1986; Kiill y Ranga, 2000; Raimúndez-Urrutia et al., 2008; Paul et al., 2023), esfingidos y colibríes (Willmott y Búrquez, 1996). ...

Aunque diversos caracteres florales de *Merremia platyphylla* (e.g., flores grandes en forma de campana de color blanco con abundante producción de néctar), sugieren polinización mediada por murciélagos, la antesis crepuscular y la accesibilidad a las recompensas florales permitió la llegada de visitantes florales que no están relacionados con el síndrome quiropterofílico como colibríes, abejas, mariposas diurnas y nocturnas, los cuales hicieron contacto con las estructuras reproductivas de la flor, con excepción de las especies de mariposas diurnas y nocturnas. No obstante, las autopolinizaciones manuales indican que *M. platyphylla* es una especie incompatible, por lo que, el contacto de los visitantes florales con las estructuras reproductivas no garantiza siempre la producción de frutos. Por ejemplo, a pesar de la gran cantidad de visitas y contacto con las partes reproductoras por *A. mellifera*, ...

Se registró que las flores expuestas exclusivamente a visitantes nocturnos producen casi del doble de frutos que las expuestas a visitantes diurnos, lo cual indica que solamente ..., ya que en las polillas nunca se observó contacto con las partes reproductoras de la flor.

Debido a que si hubo producción de frutos en las flores aisladas de visitantes nocturnos y que ni la abeja melífera ni las mariposas diurnas son consideradas polinizadores de esta enredadera, los únicos polinizadores diurnos podrían ser los colibríes *Amazilia rutila* y *Cynanthus doubledayi*, que podrían estar cumpliendo el rol de polinizadores secundarios y/o complementando la polinización, como se ha reportado en otros estudios (Dar et al., 2006). Sin embargo, se requieren experimentos detallados para conocer la contribución específica de los colibríes en la adecuación de esta especie.

Los colibríes podrían corresponder a los polinizadores ancestrales (Rosas-Guerrero, 2014), ya que es probable que las flores polinizadas por murciélagos hayan evolucionado a partir de especies polinizadas por colibríes (Fleming et al., 2009). Esto podría explicar por qué es común en varias especies observar a los colibríes visitando flores con síndrome quiropterofílico.

Uno de los resultados no esperados y que difiere con lo que se esperaría en una especie con síndrome quiropterofílico (Piechowski et al., 2009; Rocha et al., 2020; Slauson 2010), es que la mayor producción de néctar se presenta al momento de la antesis cuando todavía hay luz y los murciélagos no han empezado su actividad. Esto puede deberse ... Otra posibilidad es que la abundante producción sea una estrategia para atraer primero a los colibríes y después a los murciélagos.

El sistema de polinización mixto (aves y murciélagos) descrito en *M. platyphylla* es similar al reportado en *Inga sessilis*, la cual también depende de la polinización cruzada para su reproducción sexual. ...

Amorim y colaboradores (2012) observaron que *Inga sessilis* presenta una baja producción de frutos en condiciones naturales por limitación de polen, lo que promueve adaptaciones florales a distintos grupos de polinizadores, incluyendo gran producción de néctar y cambios

en la concentración de azúcares del mismo, lo que favorece la aparición de sistemas de polinización generalistas como una tendencia evolutiva exitosa. De igual manera, se encontró que *M. platyphylla* presenta limitación por polinizadores y produce gran cantidad de néctar, lo cual aunado a su apertura crepuscular favorece la atracción de aves y murciélagos. Cabe mencionar que el volumen de néctar acumulado encontrado en *M. platyphylla* (> 300 μ L por flor) es uno de los más altos registrados en flores polinizadas por murciélagos. Esto puede deberse a ...

Otro carácter floral que no corresponde con lo reportado en flores visitadas por murciélagos son los compuestos volátiles encontrados en las flores de *M. platyphylla*, los cuales generalmente presentan compuestos azufrados con olores fétidos (Knudsen y Tollsten, 1993; Knudsen, 1999; von Helversen et al., 2000; Petterson et al., 2004). Aunque los volátiles encontrados también se han reportado en otras especies visitadas por murciélagos, no son exclusivos como α -pineno, benzaldehído, limoneno y β -ocimeno (Gonzalez-Terrazas et al., 2016; Farré-Armengol et al., 2020). Piechowski y colaboradores (2009), estudiaron la biología de la polinización de *Parkia pendula*, especie visitada por murciélagos y encontraron que en el aroma floral de esta especie predomina el β -ocimeno con el 84% y no produce compuestos azufrados, similar a lo encontrado en el presente estudio, aunque el β -ocimeno no pasó del 10% en *M. platyphylla*. Por otro lado, se han registrado compuestos similares en flores visitadas por esfingidos, como el germacreno, β -ocimeno y benzaldehído (Miyake et al., 1998; Albuquerque-Lima et al., 2020). En ese sentido, Steen y colaboradores (2019) estudiaron la composición química de los aromas florales en la orquídea *Platanthera chlorantha* polinizada casi exclusivamente por la polilla *Sphinx pinastri*, destacando el β -ocimeno como uno de los principales compuestos aromáticos. En *M. platyphylla* este compuesto solo se detectó en las extracciones de la tarde (...), lo que corresponde con la

actividad de los esfingidos observados (...). Sin embargo, su tasa de visitas fue baja y no contribuyen a la polinización de la planta, ya que no hicieron contacto con las estructuras reproductivas. En *Merremia macrocalix*, Willmott y Búrquez (1996) documentaron polinización por esfingidos y visitas por colibríes, además, se comprobó su autoincompatibilidad y gran producción de néctar, las cuales, son características similares a las encontradas en *M. platyphylla*. Recientemente se ha demostrado que el olfato en las aves también juega un papel en la búsqueda de alimento (Caro et al., 2015; Kim et al., 2021). Desafortunadamente aún existe poca información sobre el tema, por lo tanto, no se puede afirmar una atracción por *Amazilia rutila* y *Cynanthus doubledayi* hacia los compuestos aromáticos encontrados en *M. platyphylla*.

Cabe mencionar que también se ha reportado la visita por murciélagos en flores que no emiten compuestos azufrados (Knudsen y Klitgaard, 1998; Petersson et al., 2004; Gonzalez-Terrazas et al., 2016), por lo que la atracción de los quirópteros en estas plantas puede relacionarse con otros COVs u otras características florales, como la ecolocalización y la morfología floral, que juegan un papel importante en la localización de las fuentes de alimento (von Helversen y von Helversen, 2003). Es probable que el acople entre la corola de *M. platyphylla* y los murciélagos podría ser un factor importante en la polinización, ya que la posición del estigma y la abundante cantidad de polen en las anteras facilitan la deposición de polen y su remoción por parte de los murciélagos. Sin embargo, el estigma y las anteras están poco separadas en el espacio (Figura 1C), lo que no se esperaría en una especie autoincompatible. Esta característica se ha propuesto como un mecanismo que facilita la autofecundación en especies de *Ipomoea*, género cercano de *Merremia*.

Es posible que *M. platyphylla* se encuentre en una transición evolutiva lo cual explicaría por qué no todas las características concuerdan con el síndrome quiropterofílico,

como la hora de la máxima producción de néctar, los compuestos volátiles florales y la posición relativa de anteras y estigma. Alternativamente, las características observadas pueden representar un sistema mixto estable en donde tanto los murciélagos como los colibríes sean los principales polinizadores. No obstante, se requieren estudios más detallados para comprobarlo.

Tabla 1. Revisión de estudios sobre biología reproductiva y polinización en el género *Merremia*.

Continuación.

Bibliografía citada

- Albuquerque-Lima, S., Domingos-Melo, A., Nadia, T. C. L., Bezerra, E. L. S., Navarro, D. M. A. F., Milet-Pinheiro, P., & Machado, I. C. (2020). An explosion of perfume: Mass flowering and sphingophily in the Caatinga dry region in Brazil. *Plant Species Biology*, 35(3), 243–255. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12277>
- Amorim, F. W., Galetto, L., & Sazima, M. (2012). Beyond the pollination syndrome: Nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology*, 15(2), 317–327. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00643.x>
- Ashworth, L., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Lopezaraiza-Mikel, M., Avila-Sakar, G., Rosas-Guerrero, V., & Quesada, M. (2015). Pollination syndromes: A global pattern of convergent evolution driven by the most effective pollinator. In *Evolutionary Biology: Biodiversification from Genotype to Phenotype* (pp. 203–224). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19932-0_11
- Austin, D. F., & Pedraza, R. A. (1983). Los géneros de Convolvulaceae en México. *Botanical Sciences*, 44, 3–16. <https://doi.org/10.17129/botsci.1279>
- Beattie, A. J. (1971). A technique for the study of insect-borne pollen. *Pan Pacific Entomologist*, 47, 82.
- Caro, S. P., Balthazart, J., & Bonadonna, F. (2015, February 1). The perfume of reproduction in birds: Chemosignaling in avian social life. *Hormones and Behavior*. Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.001>
- Coro Arizmendi, Ma. del, Berlanga, H. A., & Pineda Maldonado, M. A. (2014). Colibríes de México y Norteamérica Hummingbirds of Mexico and North America. Colibríes de México y Norteamérica Hummingbirds of Mexico and North America. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). <https://doi.org/10.5962/bhl.title.112129>
- Dar, S., Arizmendi, M. D. C., & Valiente-Banuet, A. (2006). Diurnal and nocturnal pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in Central Mexico. *Annals of Botany*, 97(3), 423–427. <https://doi.org/10.1093/aob/mcj045>
- Dellinger, A. S., Chartier, M., Fernández-Fernández, D., Penneys, D. S., Alvear, M., Almeda, F., ... Schönenberger, J. (2019). Beyond buzz-pollination – departures from an adaptive plateau lead to new pollination syndromes. *New Phytologist*, 221(2), 1136–1149. <https://doi.org/10.1111/nph.15468>
- Demissew, S. (2001). A synopsis of the genus *Merremia* (Convolvulaceae) in the Flora of Ethiopia and Eritrea. *Kew Bulletin*, 56(4), 931–943. <https://doi.org/10.2307/4119304>

Denzinger, A., & Schnitzler, H. U. (2013). Bat guilds, a concept to classify the highly diverse foraging and echolocation behaviors of microchiropteran bats. *Frontiers in Physiology*, 4 JUL. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00164>

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Merremia platyphylla* (Fernald) O'Donnell, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:91347>
Fecha de actualización: 24/11/2019, 9:17:25 p.m.
Fecha de consulta: 07/07/2022, 2:21:05 p.m.

Farré-Armengol, G., Fernández-Martínez, M., Filella, I., Junker, R. R., & Peñuelas, J. (2020, July 31). Deciphering the Biotic and Climatic Factors That Influence Floral Scents: A Systematic Review of Floral Volatile Emissions. *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01154>

Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., & Thomson, J. D. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347>

Fleming, T. H., & Muchhala, N. (2008, May). Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: Pantropical comparisons of vertebrate pollination systems. *Journal of Biogeography*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01833.x>

Fleming, T. H., Geiselman, C., & Kress, W. J. (2009). The evolution of bat pollination: A phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104(6), 1017–1043. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp197>

Fleming, T. H., Sahley, C. T., Holland, J. N., Nason, J. D., & Hamrick, J. L. (2001). Sonoran Desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs*, 71(4), 511–530. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(2001\)071\[0511:SDCCAT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(2001)071[0511:SDCCAT]2.0.CO;2)

Galetto, L., & Bernardello, G. (2004). Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. *Annals of Botany*, 94(2), 269–280. <https://doi.org/10.1093/aob/mch137>

Gonzalez-Terrazas, T. P., Martel, C., Milet-Pinheiro, P., Ayasse, M., Kalko, E. K. V., & Tschapka, M. (2016). Finding flowers in the dark: Nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. *Royal Society Open Science*, 3(8). <https://doi.org/10.1098/rsos.160199>

Helversen O von (1993) Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats. In: Barthlott W, Naumann CM, K. S-L, Schuchmann KL (eds) *Animal-plant interaction in tropical environments*. Museum Koenig, Bonn, pp 41–59.

Helversen O von, Y Winter (2003) Glossophagine bats and their flowers: costs and benefits for plants and pollinators. In: Kunz T, Fenton B (eds) *Ecology of bats*. University of Chicago Press, Chicago, pp 346–397.

- Hodgkison, R., Ayasse, M., Kalko, E. K. V., Häberlein, C., Schulz, S., Mustapha, W. A. W., ... Kunz, T. H. (2007). Chemical ecology of fruit bat foraging behavior in relation to the fruit odors of two species of paleotropical bat-dispersed figs (*Ficus hispida* and *Ficus scortechinii*). *Journal of Chemical Ecology*, 33(11), 2097–2110. <https://doi.org/10.1007/s10886-007-9367-1>
- Holderied, M. W., & Von Helversen, O. (2003). Echolocation range and wingbeat period match in aerial-hawking bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1530), 2293–2299. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2487>
- Kiill, L. H. P., & Ranga, N. T. (2000). Biologia da polinizacao de *Merremia aegyptia* (L.) Urb. (Convolvulaceae) no sertao de Pernambuco. *Naturalia Rio Claro*, 25, 149–158.
- Kim, A. Y., Rankin, D. T., & Rankin, E. E. W. (2021). What is that smell? Hummingbirds avoid foraging on resources with defensive insect compounds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 75(9). <https://doi.org/10.1007/s00265-021-03067-4>
- Knudsen, J. T. (1999). Floral scent differentiation among coflowering, sympatric species of *Geonoma* (Arecaceae). *Plant Species Biology*, 14(2), 137–142. <https://doi.org/10.1046/j.1442-1984.1999.00017.x>
- Knudsen, J. T., & Klitgaard, B. B. (1998). Floral scent and pollination in *Browneopsis disepala* (Leguminosae: Caesalpinioideae) in western Ecuador. *Brittonia*, 50(2), 174–182. <https://doi.org/10.2307/2807848>
- KNUDSEN, J. T., & TOLLSTEN, L. (1993). Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth - pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 113(3), 263–284. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1993.tb00340.x>
- Korine, C., & Kalko, E. K. V. (2005). Fruit detection and discrimination by small fruit-eating bats (Phyllostomidae): Echolocation call design and olfaction. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(1), 12–23. <https://doi.org/10.1007/s00265-005-0003-1>
- Lagomarsino, L. P., Forrestel, E. J., Muchhala, N., & Davis, C. C. (2017). Repeated evolution of vertebrate pollination syndromes in a recently diverged Andean plant clade. *Evolution*, 71(8), 1970–1985. <https://doi.org/10.1111/evo.13297>
- Lakshminarayana, G., & Solomon Raju, A. J. (2018). Pollination ecology of *Merremia tridentata* (L.) Hallier f. (Convolvulaceae). *Journal of Threatened Taxa*, 10(2), 11339–11347. <https://doi.org/10.11609/jott.3252.10.2.11339-11347>
- Mabberley, D. J. 1987. *The plant book*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Maimonia-Rodella, R.C.S. & R.A. Rodella (1987). Biologia floral de *Merremia cissoides* (Lam.) Hall F. (Convolvulaceae). *Naturalia* 11–12: 117–124.

- Martén-Rodríguez, S., Almarales-Castro, A., & Fenster, C. B. (2009). Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: Evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology*, 97(2), 348–359. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01465.x>
- McDonald, A. (1991). Origin and diversity of Mexican Convolvulaceae. *Anales - Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 62(1), 65–82.
- Miyake, T., Yamaoka, R., & Yahara, T. (1998). Floral scents of Hawkmoth-pollinated flowers in Japan. *Journal of Plant Research*, 111(2), 199–205. <https://doi.org/10.1007/bf02512170>
- Muchhala, N. (2003). Exploring the boundary between pollination syndromes: Bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia*, 134(3), 373–380. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1132-0>
- Muchhala, N. (2006). The pollination biology of *Burmeistera* (Campanulaceae): Specialization and syndromes. *American Journal of Botany*, 93(8), 1081–1089. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.8.1081>
- Muchhala, N. (2007). Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *American Naturalist*, 169(4), 494–504. <https://doi.org/10.1086/512047>
- Muchhala, N., Caiza, A., Vizúete, J. C., & Thomson, J. D. (2009). A generalized pollination system in the tropics: Bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany*, 103(9), 1481–1487. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn260>
- Muchhala, N., & Thomson, J. D. (2010). Fur versus feathers: Pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *American Naturalist*, 175(6), 717–726. <https://doi.org/10.1086/652473>
- O'Donnell, C.A. (1941). Revision de las especies americanas de *Merremia* (Convolvulaceae) Lilloa 6: 467-554. Universidad Nacional de Tucumán, Instituto 'Miguel Lillo'.
- Olatunji, T. L., Adetunji, A. E., Olisah, C., Idris, O. A., Saliu, O. D., & Siebert, F. (2021, October 1). Research progression of the genus *Merremia*: A comprehensive review on the nutritional value, ethnomedicinal uses, phyto-chemistry, pharmacology, and toxicity. *Plants*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants10102070>
- Ollerton, J., Killick, A., Lamborn, E., Watts, S., & Whiston, M. (2007). Multiple meanings and modes: On the many ways to be a generalist flower. In *Taxon* (Vol. 56, pp. 717–728). International Association for Plant Taxonomy. <https://doi.org/10.2307/25065856>
- Paul, S., Das, R., Chetry, K. et al. Permanent floral closure enhances the reproductive efficiency in *Merremia umbellata* subsp. *orientalis* (Hallier f.) Ooststr. (Convolvulaceae). *Plant Ecol* 224, 491–500 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11258-023-01316-2>

- Pettersson, S., Ervik, F., & Knudsen, J. T. (2004). Floral scent of bat-pollinated species: West Africa vs. the New World. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(2), 161–168. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00317.x>
- Piechowski, D., Dötterl, S., & Gottsberger, G. (2010). Pollination biology and floral scent chemistry of the Neotropical chiropterophilous *Parkia pendula*. *Plant Biology*, 12(1), 172–182. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00215.x>
- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, 125, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.09.015>
- Raguso, R. A. (2004, August). Flowers as sensory billboards: Progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Current Opinion in Plant Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.05.010>
- Raimúndez-Urrutia, E., Avendaño, L., & Velázquez, D. (2008). Reproductive biology of the morning glory *Merremia macrocalyx* (Ruiz & Pavon) O'Donnell (convolvulaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society*, 135(3), 299–308. <https://doi.org/10.3159/08-RA-027.1>
- Rocha, E. A., Domingos-Melo, A., Zappi, D. C., & Machado, I. C. (2019). Reproductive biology of columnar cacti: are bats the only protagonists in the pollination of *Pilosocereus*, a typical chiropterophilous genus? *Folia Geobotanica*, 54(3–4), 239–256. <https://doi.org/10.1007/s12224-019-09357-0>
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., & Quesada, M. (2014, March). A quantitative review of pollination syndromes: Do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*. <https://doi.org/10.1111/ele.12224>
- Rosas-Guerrero, V., Quesada, M., Armbruster, W. S., Pérez-Barrales, R., & Smith, S. D. W. (2011). Influence of pollination specialization and breeding system on floral integration and phenotypic variation in ipomoea. *Evolution*, 65(2), 350–364. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01140.x>
- Simoes, A. R., Culham, A., & Carine, M. (2015). Resolving the unresolved tribe: A molecular phylogenetic framework for the Merremieae (Convolvulaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179(3), 374–387. <https://doi.org/10.1111/boj.12339>
- Simões, A. R., & Staples, G. (2017). Dissolution of Convolvulaceae tribe Merremieae and a new classification of the constituent genera. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 183(4), 561–586. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box007>
- Slauson, L. A. (2000). Pollination biology of two chiropterophilous agaves in Arizona. *American Journal of Botany*, 87(6), 825–836. <https://doi.org/10.2307/2656890>

- Stebbins, G. L. (1970). Adaptive Radiation of Reproductive Characteristics in Angiosperms, I: Pollination Mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1(1), 307–326. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.01.110170.001515>
- Steen, R., Norli, H. R., & Thöming, G. (2019). Volatiles composition and timing of emissions in a moth-pollinated orchid in relation to hawkmoth (Lepidoptera: Sphingidae) activity. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(4), 581–592. <https://doi.org/10.1007/s11829-019-09682-3>
- Stefanović, S., Krueger, L., & Olmstead, R. G. (2002). Monophyly of the Convolvulaceae and circumscription of their major lineages based on DNA sequences of multiple chloroplast loci. *American Journal of Botany*, 89(9), 1510–1522. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.9.1510>
- The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families 2022. Published on the Internet at <http://www.ipni.org> and <http://apps.kew.org/wcsp/>
- Tremlett, C. J., Moore, M., Chapman, M. A., Zamora-Gutierrez, V., & Peh, K. S. H. (2020). Pollination by bats enhances both quality and yield of a major cash crop in Mexico. *Journal of Applied Ecology*, 57(3), 450–459. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13545>
- Van der Pijl, L. (1961). Ecological Aspects of Flower Evolution. II. Zoophilous Flower Classes. *Evolution*, 15(1), 44. <https://doi.org/10.2307/2405842>
- Varassin, I. G., Penneys, D. S., & Michelangeli, F. A. (2008). Comparative anatomy and morphology of nectar-producing Melastomataceae. *Annals of Botany*, 102(6), 899–909. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn180>
- Varassin, I. G., Trigo, J. R., & Sazima, M. (2001). The role of nectar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 136(2), 139–152. <https://doi.org/10.1006/bojl.2000.0438>
- Von Helversen, D., & Von Helversen, O. (2003). Object recognition by echolocation: A nectar-feeding bat exploiting the flowers of a rain forest vine. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 189(5), 327–336. <https://doi.org/10.1007/s00359-003-0405-3>
- Von Helversen, O., Winkler, L., & Bestmann, H. J. (2000). Sulphur-containing “perfumes” attract flower-visiting bats. *Journal of Comparative Physiology - A Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 186(2), 143–153. <https://doi.org/10.1007/s003590050014>
- Wester, P., Cairampoma, L., Haag, S., Schramme, J., Neumeyer, C., & Claßen-Bockhoff, R. (2020). Bee exclusion in bird-pollinated salvia flowers: The role of flower color versus flower construction. *International Journal of Plant Sciences*, 181(8), 770–786. <https://doi.org/10.1086/709132>

- Wester, P., & Lunau, K. (2017). Plant–Pollinator Communication. *Advances in Botanical Research*, 82, 225–257. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.10.004>
- Willmott, A. P., & Búrquez, A. (1996). The pollination of *Merremia palmeri* (Convolvulaceae): Can hawk moths be trusted? *American Journal of Botany*, 83(8), 1050–1056. <https://doi.org/10.2307/2445994>
- Winfree, R., Bartomeus, I., & Cariveau, D. P. (2011). Native pollinators in anthropogenic habitats. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145042>
- Young, H. J. (2002). Diurnal and nocturnal pollination of *Silene alba* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, 89(3), 433–440. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.3.433>