



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

CAMPUS COSTA GRANDE

ESCUELA SUPERIOR EN DESARROLLO SUSTENTABLE

**SISTEMA DE COMPATIBILIDAD, POLINIZADORES EFECTIVOS Y
LIMITACIÓN DE POLEN EN EL CIRIÁN (*CRESCENTIA ALATA*) EN
TÉCPAN DE GALEANA, GUERRERO**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERÍA EN SISTEMAS AMBIENTALES

PRESENTA

MARIANA CEBALLOS TORRES

DIRECTOR DE TESIS

DR. VÍCTOR MANUEL ROSAS GUERRERO

CO-DIRECTORA

M.C. BLANCA LORENA ALEMÁN FIGUEROA

ASESOR

M.C. RODRIGO LUCAS GARCÍA

JUNIO 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

CAMPUS COSTA GRANDE

ESCUELA SUPERIOR EN DESARROLLO SUSTENTABLE

**SISTEMA DE COMPATIBILIDAD, POLINIZADORES EFECTIVOS Y
LIMITACIÓN DE POLEN EN EL CIRIÁN (*CRESCENTIA ALATA*) EN
TÉCPAN DE GALEANA, GUERRERO**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERÍA EN SISTEMAS AMBIENTALES

PRESENTA

MARIANA CEBALLOS TORRES

DIRECTOR DE TESIS

DR. VÍCTOR MANUEL ROSAS GUERRERO

CO-DIRECTOR

M.C BLANCA LORENA ALEMÁN FIGUEROA

ASESORES

M.C RODRIGO LUCAS GARCÍA

JUNIO 2026

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a mi Morenita de Guadalupe por darme salud, fuerza, valor y confianza para culminar este tema de investigación.

A mis padres y hermanos por brindarme su apoyo incondicional y estar siempre para mí.

A mi novio por sus palabras, apoyo incondicional y alentarme a continuar con este tema de investigación.

Al Dr. Víctor Manuel Rosas Guerrero por brindarme confianza y llevar conmigo de la mano este tema de investigación, por resolver mis dudas, cada uno de sus comentarios, observaciones, orientación y sugerencias durante todo este tiempo. Por su apoyo y prestación de materiales en campo.

A la M.C. Blanca Lorena Alemán Figueroa y al M.C. Rodrigo Lucas García por su apoyo y confianza, cada uno de sus comentarios, orientación y sugerencias.

A mis amigos y compañeros María de los Ángeles Ramírez López, Axel Gustavo Adame Hernández y Gilberto Núñez Landeros por su apoyo en campo.

¡A todos ustedes, Muchas Gracias!

DEDICATORIA

A mi familia

Gracias por su amor, apoyo incondicional, por siempre estar y darme ánimos de seguir adelante para ser cada día una mejor persona. Los amo y llevo siempre en mi corazón.

CONTENIDO

PÁGINA

RESUMEN.....	6
I. INTRODUCCIÓN	7
II. METODOLOGÍA	10
2.1. Área de estudio.....	10
2.2. Especie de estudio	11
2.3. Tasa de fructificación natural	12
2.4. Sistema de compatibilidad y limitación de polen	12
2.5. Hercogamia.....	14
2.6. Visitantes florales y visitantes legítimos	14
2.7. Polinizadores efectivos, importancia y efectividad relativa.....	14
III. RESULTADOS.....	15
3.1. Tasa de fructificación natural	15
3.2. Sistema de compatibilidad y limitación de polen	16
3.3. Hercogamia.....	20
3.4. Visitantes florales y visitantes legítimos	21
3.5. Polinizadores efectivos, importancia y efectividad relativa.....	26
IV. DISCUSIÓN	28
V. CONCLUSIONES.....	34
VI. RECOMENDACIONES DE TRABAJOS FUTUROS.....	35
VII. BIBLIOGRAFÍA	36
ANEXOS.....	50
Manuscrito. Invasive honeybees exacerbate the low reproductive success of a bat-pollinated tree.	53

RESUMEN

Muchas especies de plantas con flor que dependen de la polinización mediada por animales, especialmente aquellas con sistemas de incompatibilidad, presentan limitación de polen, diezmando su reproducción sexual. Aunado a esto, diversos visitantes florales pueden influir negativamente en la transferencia de polen mediada por sus polinizadores efectivos, afectando su éxito reproductivo. En este estudio se determinó la tasa de fructificación natural, sistema de apareamiento, sistema de polinización, limitación de polen, efectividad de visitantes florales y distancia antera-estigma en el cirián (*Crescentia alata*) en cuatro localidades de la cabecera de Técpan de Galeana, Guerrero, durante los meses de octubre-noviembre del 2021 y julio del 2022, con el objetivo de identificar posibles causas del bajo éxito reproductivo en esta especie. El cirián presentó una bajísima tasa de fructificación, un sistema completamente autoincompatible y extrema limitación de polen. A pesar de ser visitada por nueve diferentes visitantes florales, solamente los murciélagos fueron sus polinizadores efectivos; no obstante, la presencia de abejas exóticas antes de la llegada de éstos, limitó su efectividad. Aunado a esto, la escasa hercogamia registrada puede favorecer la autopolinización, lo cual impediría el desarrollo de frutos. Todo lo anterior sugiere que la baja producción de frutos del cirián es multifactorial, por lo que es indispensable implementar diversas estrategias para asegurar la conservación de esta especie de árbol de gran importancia ecológica, económica y cultural.

Palabras clave: autoincompatibilidad, conservación, cuastecomate, fructificación, jícaro, murciélagos, quiropterofilia, visitantes florales.

I. INTRODUCCIÓN

Las relaciones planta-polinizador son una de las interacciones planta-animal más importantes, ya que la mayoría de las plantas necesitan de la polinización mediada por animales para su reproducción sexual a través de la producción de semillas (Kearns et al. 1998, Ollerton et al. 2011). La polinización es el proceso mediante el cual se transfieren los granos de polen desde las anteras hasta los estigmas de una flor conespecífica (Kearns e Inouye 1993, Vergara y Badano 2009, Ollerton et al. 2011, Willmer 2011, CONABIO 2022, Figueroa-Castro 2024), de la cual eventualmente resulta la fecundación del óvulo (Willmer 2011, CONABIO 2022) y la producción de semillas. Dicha transferencia de polen puede ocurrir por dos vías: autopolinización, en la que el polen de una flor es depositado al estigma de la misma flor (i.e., autogamia) o al estigma de otra flor del mismo individuo (i.e., geitonogamia); y polinización cruzada o exogamia, en la que el polen de una flor es depositado al estigma de una flor de otro individuo conespecífico (Richards 1986, Badano y Schlumpberger 2001, Barrett 2002a). A estos mecanismos de transferencia de polen se les denomina sistemas de apareamiento (Barrett 2002a, Barrett 2003, Delgado-González 2018).

Las plantas con sistemas exógamos generalmente presentan mayor diversidad genética y menor probabilidad de expresión de genes deletéreos que puedan afectar a la población (Podolsky 1992). Por otro lado, las plantas con sistemas autógamos generalmente presentan mayor endogamia, la cual provoca una disminución en la variación genética y una disminución en la adecuación de la planta (Bertin y Sullivan 1988, Barrett 2002a), es decir, una menor producción, peso y viabilidad de semillas, menor germinación y/o menor crecimiento y reproducción de las plántulas, disminución en la capacidad competitiva y menor resistencia al estrés y/o a enfermedades (Franklin 1970, Mitton et al. 1981, Keller y Waller 2002, Charlesworth 2006).

Por lo anterior, muchas especies de plantas hermafroditas evitan la autopolinización a través de diversos mecanismos, incluyendo la hercogamia (i.e., separación física de las anteras y estigma; Bawa et al. 1985, Webb y Lloyd 1986, Herlihy y Eckert 2007,

Mandujano et al. 2010, Martínez-Ramos et al. 2017), dicogamia (i.e., separación temporal en la dehiscencia de las anteras y la receptividad del estigma; Barrett 2002a, Barrett 2003, Silva-Martínez 2007) y el sistema de incompatibilidad (i.e., incapacidad de una planta fértil para producir semillas después de la autopolinización), que permite reconocer y rechazar el polen propio o con el mismo genotipo y aceptar aquel de plantas genéticamente diferentes (De Nettancourt 1977; 2001, Charlesworth 2006, Jiménez-Duran y Cruz-García 2011). Específicamente, la hercogamia se presenta en muchas plantas polinizadas por animales (Barrett 2002b), actuando como un mecanismo para reducir la interferencia entre las funciones reproductivas de los órganos sexuales y para favorecer el transporte de polen a otros individuos, disminuyendo la posibilidad de una saturación del estigma causada por la recepción de polen propio (Webb y Lloyd 1986, Barrett 2002b, Barrett 2003, Ruan y Jiang 2006, Herlihy y Eckert 2007). Se ha reportado que su presencia llega a estar acompañada por sistemas de autoincompatibilidad, obligando a la especie a reproducirse por polinización cruzada (Martínez-Peralta et al. 2014).

La dependencia de polinización cruzada obliga a las plantas con estos sistemas a depender de vectores de polinización (Kearns e Inouye 1993, Willmer 2011), lo cual ha favorecido la evolución de caracteres y recompensas florales en las plantas con polinización biótica (Kearns et al. 1998). Por lo tanto, la atracción de polinizadores ha sido una importante fuerza evolutiva que ha moldeado los sistemas sexuales y sistemas de polinización de las plantas (Podolsky 1992). Se ha postulado que la atracción hacia grupos especiales de polinizadores ha permitido la aparición de los síndromes de polinización (Pellmyr 2002, Rosas-Guerrero et al. 2014), los cuales son un conjunto de características florales vinculadas a los animales que las polinizan para que les otorguen un mejor servicio de polinización (Heithaus 1982). Por ejemplo, en el caso del síndrome de quiropterofilia, las flores generalmente presentan anthesis nocturna, coloración clara, oscuras o rojizas, con forma campanulada, caulifloras o flagelifloras, radialmente simétricas (Faegri y Van der Pijl 1966; 1979, Von Helversen y Winter 2003, Fleming et al. 2009), con gran producción de néctar y polen y con olores fuertes (Faegri y Van der Pijl 1979, Knudsen y Tollsten 1995, Von Helversen et al. 2000).

Una especie de planta que presenta este tipo de síndrome, sistema de incompatibilidad y variación en la hercogamia es el cirrián, jícaro o cuastecomate (*Crescentia alata*; Gentry, 1974, Lott, 1993, Thompson 2014). De hecho, se ha encontrado que sus flores son visitadas por murciélagos (Sánchez-Casas y Álvarez 2000, Stoner et al. 2003), los cuales tocan usualmente las partes reproductivas de la flor (Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). Aunado a esto, se han encontrado granos de polen del cirrián en el cuerpo o heces de los murciélagos (Oceguera-Salazar y Fernández 2000, Sperr et al. 2011, Thompson 2014), lo cual sugiere que son polinizadores efectivos de este árbol. No obstante, se ha observado que las flores también son visitadas por aves, abejas, colibríes, polillas y hormigas (Gentry 1974, Heithaus et al. 1975, Martínez del Río y Bullock 1990, Janzen 1991, Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). Martínez del Río y Bullock (1990) encontraron que sus flores son parasitadas por dos especies de abejas, las cuales remueven aproximadamente el 40% de la producción total de néctar y dañan hasta el 100% de las anteras antes de la llegada de sus polinizadores, por lo que dicho robo podría afectar su éxito reproductivo. Algunos autores han mencionado que esta especie depende totalmente de vectores para su polinización, debido a que presenta un sistema mayormente autoincompatible (Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). Sin embargo, ningún estudio ha evaluado la efectividad de dichos visitantes florales.

Esta especie se utiliza como sombra, alimento (Janzen 1982a, Janzen y Martin 1982, Zamora et al. 2001, Bye et al. 2002, Jarquin 2012, Olivares-Pérez et al. 2018), leña, carbón, madera (Jarquin 2012, Ruiz-Aguilar 2021), para tratar enfermedades respiratorias, esguinces, afecciones cutáneas o laxantes y para la elaboración de diversos utensilios y artesanías (Cajas-Giron y Sinclair 2001, Solares 2004, Carrasco y Salmerón 2017, Olivares-Pérez et al. 2018, Aguirre-Dugua y Casas 2023). En la parte baja del municipio de Técpan de Galeana, Guerrero, a pesar de que la gente usualmente lo siembra por sus diversos usos, esta especie presenta muy baja producción de frutos y no se han encontrado individuos en áreas de bosque continuo (V. Rosas-Guerrero, observación personal). Debido a que el éxito reproductivo de las plantas depende en gran medida de su sistema de compatibilidad, limitación de polen, sistema de polinización y del impacto de los

ladrones de recompensas florales, los objetivos específicos de este estudio son: **(1)** estimar la tasa de fructificación natural, **(2)** determinar el sistema de compatibilidad, **(3)** evaluar la limitación de polen, **(4)** determinar la variación en la hercogamia e **(5)** identificar a los ladrones principales, visitantes legítimos y polinizadores efectivos del ciríán en la cabecera municipal de Técpan de Galeana.

Se espera que el ciríán presente baja tasa de fructificación natural debido a una gran limitación de polen por ser predominantemente exógama y debido al efecto antagónico de diversos visitantes florales que no lo polinizan. Asimismo, debido a la fácil accesibilidad y gran cantidad de recompensas florales del ciríán, se espera que presente gran cantidad de visitantes florales, de los cuales solamente los murciélagos actuarán como polinizadores efectivos debido a que sus características florales están asociadas al síndrome de quiropterofilia (Stoner et al. 2002, Quesada et al. 2003; 2004, Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008, Tabla S2 de Rosas-Guerrero et al. 2014). A pesar de que diversos estudios han registrado a los visitantes florales y determinado el sistema de apareamiento del ciríán, ninguno ha evaluado las posibles causas del bajo éxito reproductivo de esta especie de gran importancia cultural, económica y ecológica.

II. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

El estudio se realizó en cuatro localidades de la cabecera municipal de Técpan de Galeana, Guerrero, México (Tabla S1): **(1)** Col. Las Tunas (17° 14' 47.4"; 100° 37' 44.7", 57 msnm); **(2)** Col. Ramos (17° 13' 46.0"; 100° 38' 12.1", 17 msnm); **(3)** Col. Vista Hermosa (17° 12' 54.7"; 100° 38' 44.0", 17 msnm) y **(4)** Villa Rotaria (17° 11' 38.3"; 100° 40' 08.7", 17 msnm; INEGI 2023a, b). En dichas localidades predomina un clima cálido, subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media anual de 27 °C, alcanzando un máximo de 32 °C entre abril y mayo y de 18 °C en enero, con precipitación 800-2500 mm (INEGI 2010). La vegetación predominante es el bosque seco tropical y una matriz agrícola, con

predominancia del coco, mango, plátano, maíz, frijol y pastizales para aprovechamiento de ganado (INEGI 2010, Osorio et al., 2015).

2.2. Especie de estudio

El cirián (*Crescentia alata*), conocido también como jícara o cuastecomate, es una especie arbórea que pertenece a la familia Bignoniaceae (Gentry 1990, Janzen 1982a; Figura S1). Se distribuye desde el sur de México hasta Costa Rica (Janzen 1982a, b, Janzen 1991, Bass 2004). En México, se encuentra principalmente en los estados de Chihuahua, San Luis Potosí, Sinaloa, Colima, Guerrero, Oaxaca y Jalisco (SEMARNAT 2018, Enciclovida 2025) y es de gran interés cultural y económico en Mesoamérica (Corrales et al. 2016). Fue probablemente dispersada por la megafauna del Pleistoceno; aunque actualmente sus frutos son consumidos por caballos y el ganado (Janzen y Martin 1982, Janzen y Wilson 1991), se adapta a una gran variedad de suelos y llega a tolerar tanto al fuego como a condiciones severas de sequía (Wagner 1964, Bass 2004, Corrales et al. 2016). En el área de estudio se ha observado exclusivamente en lugares perturbados.

Se considera un arbusto de gran tamaño (Janzen 1991) o un árbol de tamaño mediano y se propaga únicamente por semillas (4-12 m; Aguirre-Dugua y Casas 2023). Tiene numerosas ramas y sus hojas son trifoliadas con peciolo alado en forma de cruz (Hernández y Campos 2007, López et al. 2014, Aguirre-Dugua y Casas 2023). Produce una gran cantidad de flores caulifloras, hermafroditas y campanuladas en un corto periodo de tiempo (Gentry 1974, Janzen 1991, Thompson 2014). Las flores abren aproximadamente hora y media antes del atardecer y duran una noche (Martínez del Río y Bullock 1990, Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). Sus flores presentan corolas de colores rojizos o verdes con rayas bien definidas (Aguirre-Dugua y Casas 2023), desprenden olores fuertes almizclados y producen abundante néctar (480 y 600 μ l), alcanzando su punto máximo alrededor de la medianoche (Gentry 1974, Martínez del Río y Bullock 1990, Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). Sus frutos son redondos, con exocarpo duro y liso de color verde-amarillento, y se mantienen en el árbol antes de volverse amarillos y

caer, con abundante mesocarpio que rodea las semillas (Gentry 1980, Janzen 1991, Jarquín 2012, Carrasco y Salmerón 2017).

De acuerdo a sus características florales, es polinizada por murciélagos, específicamente por *Glossophaga soricina* y *Leptonycteris curasoae* (Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008, Thompson 2014). No obstante, recibe una gran variedad de visitantes, incluyendo abejas, avispa, colibríes, hormigas y polillas (Gentry 1974, Janzen 1991, Uribe-Villavicencio 2007, Maldonado-López 2008). En la región de Chamela, Jalisco, su época de floración es durante la temporada de lluvias, aproximadamente desde los últimos días de junio hasta septiembre (Lott 2002, Maldonado-López 2008).

2.3. Tasa de fructificación natural

El estudio se realizó durante los meses de octubre-noviembre de 2021 y julio de 2022. En el área de estudio se encontraron 35 individuos, de los cuales se seleccionaron los 10 árboles que presentaron la mayor cantidad de flores para la estimación de tasa de fructificación natural: cuatro ubicados en la localidad de Las Tunas (árboles A-D), dos en la colonia Ramos (árboles E-F), tres en la colonia Vista Hermosa (árboles G-I) y uno en Villa Rotaria (árbol J; Tabla S2). Se etiquetaron de 15 a 30 flores por árbol, dependiendo de la disponibilidad de las flores, y se monitorearon hasta la maduración o aborción del fruto. La tasa de fructificación se estimó como la proporción del número total de frutos desarrollados dividido entre el número total de flores etiquetadas por individuo (Dafni 1992).

2.4. Sistema de compatibilidad y limitación de polen

Para determinar el sistema de compatibilidad y la limitación de polen, en el año 2021 se realizaron los siguientes tratamientos: **(1)** Autopolinización: flores embolsadas antes de su antesis, polinizadas con polen de sus propias anteras una vez que estaban dehiscentes y embolsadas hasta la abscisión de las flores; **(2)** Polinización cruzada: flores embolsadas antes de su antesis, emasculadas antes de que sus anteras estuvieran dehiscentes, polinizadas con anteras de flores de otro individuo y embolsadas hasta la abscisión de las flores; **(3)** Polinización abierta: flores descubiertas sin ningún tipo de

manipulación. Cada tratamiento se realizó en 132 flores de nueve árboles (A-I; Tabla S2), las cuales se etiquetaron para su monitoreo hasta la maduración del fruto o aborción. Para determinar categóricamente el sistema de compatibilidad y la limitación de polen, se estimaron los índices descritos en la Tabla 1.

Tabla 1. Determinación de los índices de autoincompatibilidad y limitación de polen.

Índice	Definición	Fórmula	Interpretación	Referencia
Autoincom- patibilidad	Incapacidad de una planta para desarrollar frutos debido a la fecundación de óvulos por polen propio	AU/CR AU = Número de frutos provenientes de autopolinización CR = Número de frutos provenientes de la polinización cruzada	0 = Totalmente autoincompatible 0.1–0.2 = Mayormente autoincompatible 0.2–1.0 = Parcialmente autoincompatible >1.0 = Totalmente autocompatible	Ruiz-Zapata y Arroyo 1978
Limitación de polen	Disminución en la producción de frutos y semillas por la cantidad y/o calidad de polen recibido de manera natural	AB/CR AB = Número de frutos provenientes de polinización abierta CR = Número de frutos provenientes de la polinización cruzada	0–0.2 = Alta limitación de polen 0.2–0.8 = Poca limitación de polen >0.8 = Ausencia de limitación de polen	Larson y Barrett 2000

Aproximadamente a los 60 días de realizados los tratamientos, se colectaron los frutos desarrollados. Debido a que se observaron diferencias entre los frutos obtenidos por polinización cruzada entre distintos árboles, se comparó el diámetro polar, diámetro ecuatorial y el peso de los frutos entre los distintos árboles para determinar si existían

diferencias a través de un análisis de varianza de una vía con el programa SigmaPlot versión 11.0. Se determinó el peso con una balanza analítica (Ohaus Scout Pro SP401, con precisión de 0.1 g) y el diámetro polar y ecuatorial con un calibrador digital (Mitutoyo CD-8" ASXL, Truper CALDI-6MP; ambos con precisión de 0.01 mm).

2.5. Hercogamia

Se estimó la distancia mínima entre el estigma y la antera para determinar la posible deposición de polen de manera autónoma. Se colectaron cinco flores durante diez noches en seis árboles (50 flores en total) entre las 22:00 y 22:30 h. La distancia mínima se estimó utilizando un calibrador digital (Mitutoyo CD-8" ASXL, Truper CALDI-6MP; ambos con precisión de 0.01 mm).

2.6. Visitantes florales y visitantes legítimos

Para identificar a los visitantes florales, se realizaron filmaciones a las flores en 2021 y 2022 con videocámaras (Sony DCR-SR45, FDR AX33 y HDR-CX455), las cuales se colocaron de tal forma que se permitiera observar las anteras y estigma de la flor e identificar el comportamiento (i.e., robo de néctar/polen y contacto con las partes reproductivas de la flor) de los distintos visitantes florales. Se consideraron visitantes legítimos aquellos que contactaron las anteras y el estigma. Se filmaron cuatro flores por árbol por noche desde la apertura floral (~18:00 h) hasta cuatro horas y media después, en cuatro periodos de aproximadamente 30 minutos. Se registró el tipo de visitante, hora de visita, partes de la flor con que tuvo contacto (i.e., antera y/o estigma) y tipo de recompensa que consumió o colectó (néctar y/o polen). Se asumió como potencial consumo de néctar el que los visitantes hayan introducido su cabeza o cuerpo completo y tocaran el fondo de la flor, mientras que el potencial consumo de polen se consideró cuando los visitantes contactaron gran parte de las anteras.

2.7. Polinizadores efectivos, importancia y efectividad relativa

Para determinar a los polinizadores efectivos se realizaron dos tratamientos: **(1)** Polinización diurna: flores embolsadas después del anochecer para evitar que fueran

visitadas por algún polinizador nocturno; y **(2)** Polinización nocturna: flores embolsadas antes de su antesis, pero desembolsadas después del atardecer. Las flores se etiquetaron y se monitorearon hasta la maduración del fruto o su aborción. Cada tratamiento se realizó en 132 flores.

Para determinar el índice de importancia (II) y la importancia relativa (IR) de cada visitante floral, se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$II = A \times E \times TV \qquad IR = (I \times 100) / \Sigma II;$$

donde A es la proporción de visitas que contactaron las anteras, E la proporción de visitas que contactaron el estigma, TV la tasa de visitas por flor por hora y ΣII la suma de los valores del índice de importancia de cada visitante floral (Núñez-Avellaneda y Rojas-Robles 2008, Carreño-Barrera et al. 2021).

Asimismo, para determinar el índice de efectividad (IE) y la efectividad relativa (ER) de cada visitante floral, se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$IE = II \times TF \qquad ER = (IE \times 100) / \Sigma IE;$$

donde II es el índice de importancia previamente descrito, TF la tasa de fructificación proveniente de los tratamientos de polinización efectiva diurna y nocturna y ΣIE la suma de los valores del índice de efectividad de todos los visitantes florales.

III. RESULTADOS

3.1. Tasa de fructificación natural

De las 300 flores a las que se les hizo el seguimiento fenológico, solamente dos desarrollaron frutos, es decir, solo el 0.7%, la cual es considerada una bajísima tasa de fructificación natural, lo que sugiere alta limitación de polinización.

3.2. Sistema de compatibilidad y limitación de polen

Los diferentes tratamientos de polinización indicaron que el cirrián presentó un sistema reproductivo completamente autoincompatible, ya que no hubo fructificación en el tratamiento de autopolinización. Asimismo, se encontró que presenta extrema limitación de polen, pues fue mucho menor la tasa de fructificación en el tratamiento de polinización abierta comparada con la de polinización cruzada (0.0 vs 0.6; Tabla 2). La tasa de fructificación fue moderada para el tratamiento de polinización cruzada, lo cual sugiere que también existe limitación de recursos (e.g., agua, luz, nutrientes).

Tabla 2. Sistema de apareamiento y limitación de polen en diferentes individuos de *Crescentia alata* en Técpan de Galeana, Guerrero.

Tratamiento	Árbol ¹									Total ²
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Autopolinización	0 (4)	0 (22)	0 (8)	0 (10)	0 (15)	0 (15)	0 (38)	0 (10)	0 (10)	0 (132) [0.0]
Polinización abierta	0 (4)	0 (27)	0 (13)	0 (10)	0 (5)	0 (15)	0 (38)	0 (10)	0 (10)	0 (132) [0.0]
Polinización cruzada ³	0 (4) <i>0.0</i>	14 (22) <i>0.64</i>	2 (8) <i>0.25</i>	6 (10) <i>0.60</i>	12 (15) <i>0.80</i>	0 (15) <i>0.0</i>	26 (38) <i>0.68</i>	9 (10) <i>0.90</i>	4 (10) <i>0.40</i>	73 (132) [0.55]
Índice	Resultado		Interpretación							
Autocompatibilidad	0.00		Totalmente autoincompatible							
Limitación de polen	0.00		Alta limitación de polen							

¹ Números entre paréntesis indican el total de flores por tratamiento por árbol. Letras mayúsculas indican la identidad de cada individuo a los que se aplicaron los tratamientos (detalles por árbol en Tabla S2).

² Números entre corchetes y negritas indican la tasa de fructificación por tratamiento. ³ Números en cursivas indican tasa de fructificación por polinización cruzada por individuo.

Existieron diferencias significativas en el tamaño y peso de los frutos provenientes de la polinización cruzada entre distintos individuos. Específicamente, los frutos de los árboles B, D y H presentaron mayor diámetro polar que los frutos provenientes de los árboles E y G ($t > 2.702$, $P < 0.010$, en todas las comparaciones; Figura 1). Asimismo, los frutos del árbol D presentaron mayor diámetro ecuatorial que los frutos provenientes de

los árboles E, G y H ($t > 3.484$, $P < 0.001$, en todas las comparaciones), mientras que los frutos del árbol B presentaron mayor diámetro ecuatorial que los frutos provenientes de los árboles G y H ($t = 3.606$, $P < 0.001$, en todas las comparaciones; Figura 2). Finalmente, los frutos del árbol D presentaron mayor peso que los frutos provenientes de los árboles G y H ($t = 5.139$, $P < 0.001$; $t = 3.666$, $P < 0.001$, respectivamente), mientras que los frutos provenientes del árbol B presentaron mayor peso que los del árbol G ($t = 4.583$, $P < 0.001$; Figura 3).

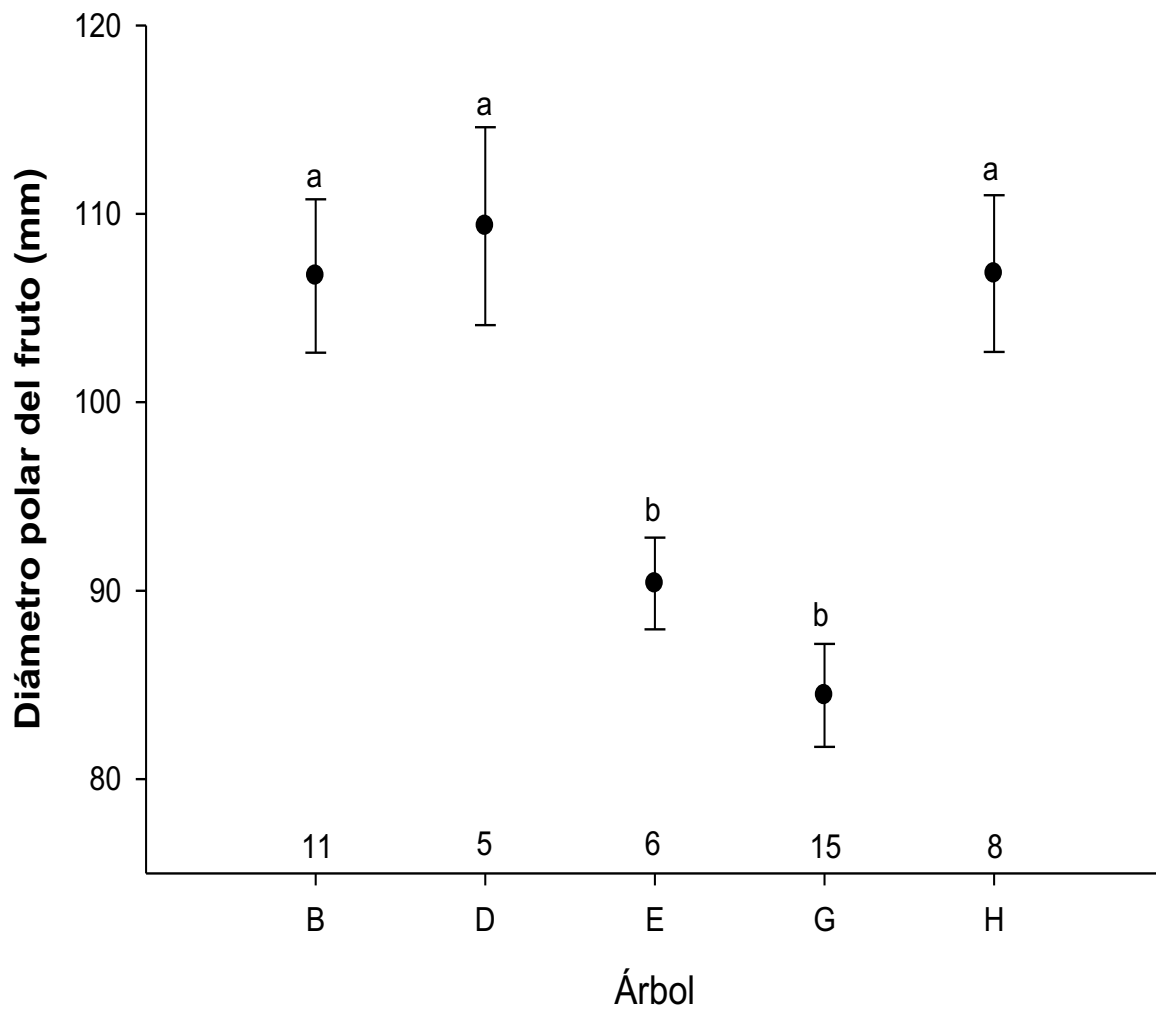


Figura 1. Diámetro polar de frutos de *Crescentia alata* provenientes de polinización cruzada en distintos individuos. Letras mayúsculas (B-H) indican distintos árboles. Números sobre el eje X indican el tamaño de la muestra. Letras diferentes arriba de las líneas verticales indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre distintos árboles. Se muestran promedios $\pm$ desviación estándar.

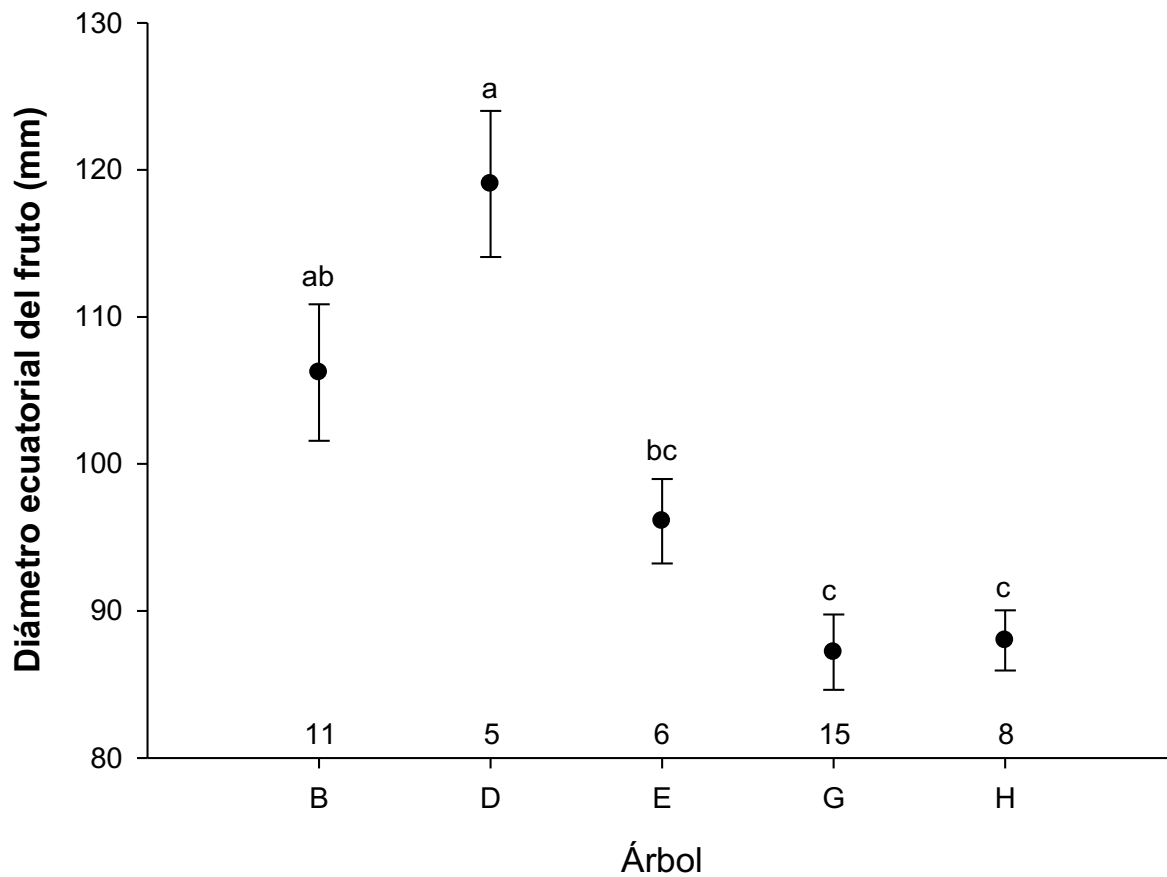


Figura 2. Diámetro ecuatorial de frutos de *Crescentia alata* provenientes de polinización cruzada en distintos individuos. Letras mayúsculas (B-H) indican distintos árboles. Números sobre el eje X indican el tamaño de la muestra. Letras diferentes arriba de las líneas verticales indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre distintos árboles. Se muestran promedios $\pm$ desviación estándar.

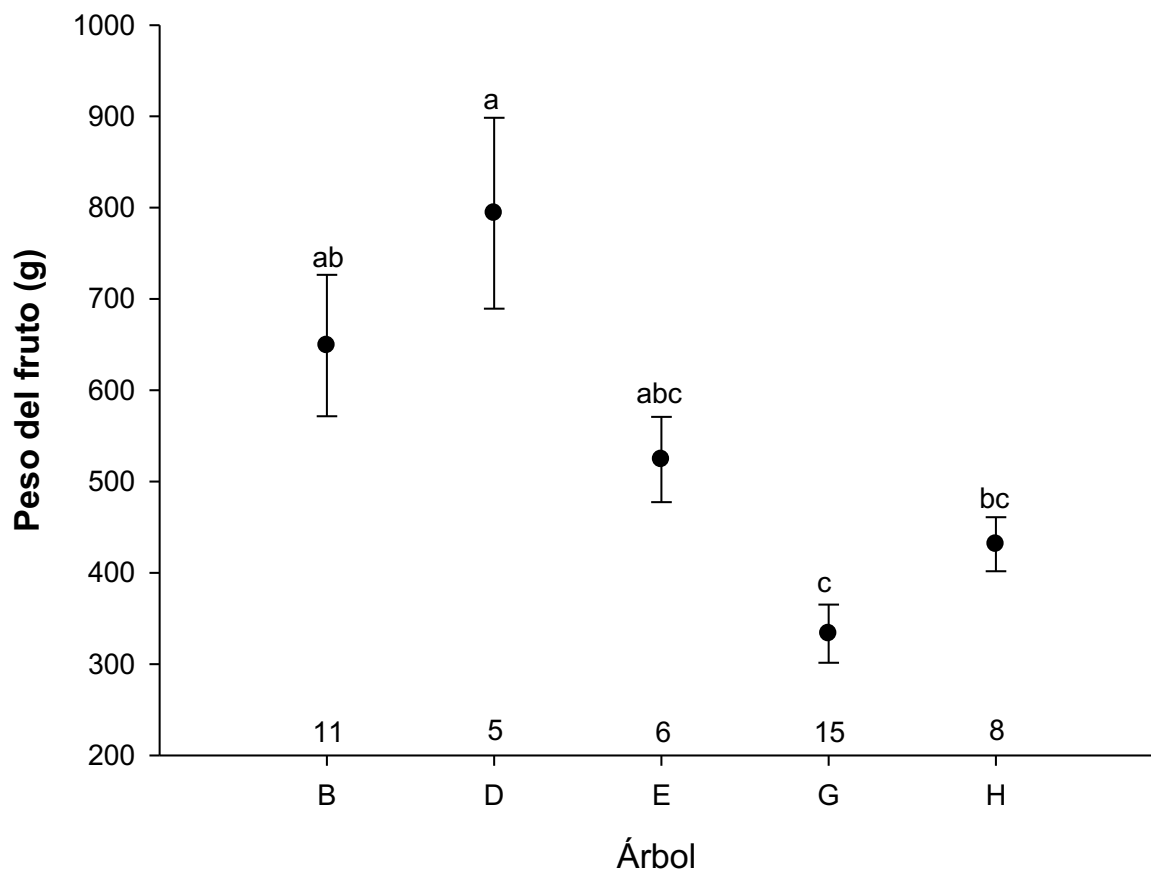


Figura 3. Peso de frutos de *Crescentia alata* provenientes de polinización cruzada en distintos individuos. Letras mayúsculas (B-H) indican distintos árboles. Números sobre el eje X indican el tamaño de la muestra. Letras diferentes arriba de las líneas verticales indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre distintos árboles. Se muestran promedios $\pm$ desviación estándar.

3.3. Hercogamia

El valor promedio de hercogamia registrado fue de 2.6 cm, con un valor mínimo y máximo de 0.0 y 6.94 cm, respectivamente (Figura 4).

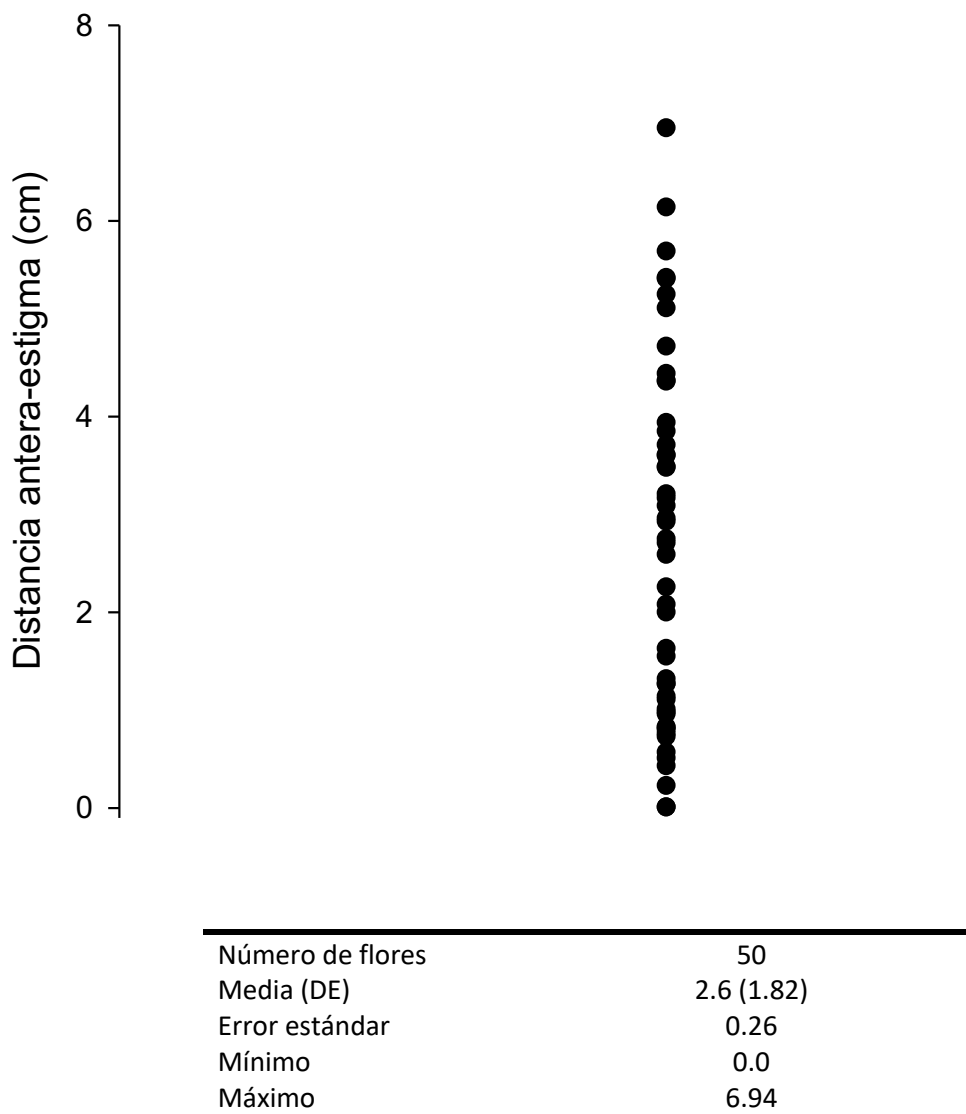


Figura 4. Distancia de antera-estigma en flores de *Crescentia alata*.

3.4. Visitantes florales y visitantes legítimos

La apertura de las flores comenzó entre las 18:00 y 18:30 h, poco antes del anochecer, estando completamente abiertas entre las 20:00 a 20:30 h. Durante la etapa de floración se filmaron 45 flores de 10 árboles durante 22 noches, registrándose un total

de 1 074 visitas. Para el año 2021 (35.7 h, 17 flores) se registraron 127 visitas, mientras que para el 2022 (44.5 h, 28 flores) se registraron 947 visitas.

Se identificaron nueve tipos de visitantes, de los cuales cuatro fueron diurnos, incluyendo abejas, avispa, moscas y colibríes (Figuras 5a-d). En cuanto a los visitantes nocturnos, se observaron lagartijas, polillas, murciélagos, cucarachas y hormigas (Figura 5e-i).

En ambos años, los visitantes más comunes fueron las abejas (2021: 62%, 2022: 75%), seguidos por los murciélagos (20 y 7%, respectivamente), hormigas (13 y 7%), avispa (1 y 10%) y polillas (2 y 0.3%; Figura 6). Los visitantes florales que mayormente visitaron las flores para consumo potencial de néctar fueron los colibríes y murciélagos, mientras que un alto porcentaje de las visitas de abejas consumieron potencialmente polen (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de potencial consumo de néctar y polen por visitante de *Crescentia alata* durante los años 2021 y 2022 en Técpan de Galeana, Guerrero.

Visitantes	n ¹		Néctar (%)		Polen (%)	
	2021	2022	2021	2022	2021	2022
Abejas	79	714	1.3	36.1	30.4	41.3
Colibríes	0	1	---	100.0	---	0.0
Hormigas	16	65	0.0	18.5	0.0	0.0
Lagartijas	1	1	100.0	0.0	0.0	0.0
Murciélagos	26	65	92.3	90.8	88.5	72.3
Polillas	2	3	50.0	100.0	0.0	0.0
Moscas	0	5	---	40.0	---	0.0
Avispa	1	93	0.0	40.9	0.0	1.1
Cucarachas	2	0	0.0	---	0.0	---

¹ n indica el número total de visitantes en ambos años. ² --- indican que no hubo datos de consumo de néctar o polen.

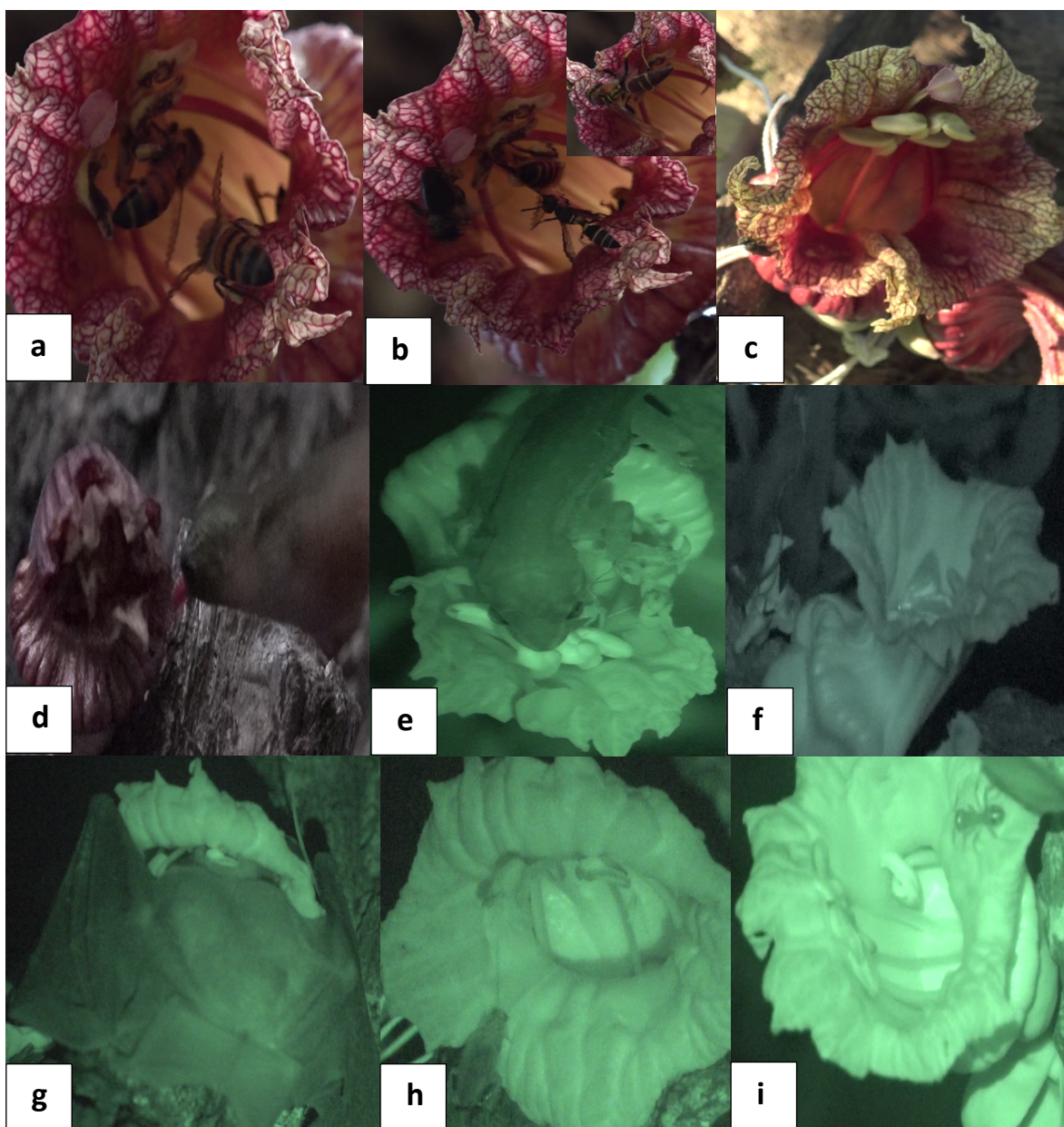


Figura 5. Visitantes florales en *Crescentia alata*. **a)** Abejas dentro de la flor, observándose el color oscurecido de las anteras por la remoción de polen. **b)** Abejas y avispas visitando las flores, observándose el estigma abierto. **c)** Mosca en el borde de la flor, observándose las anteras antes de liberar el polen. **d)** Colibrí robando néctar, introduciendo el pico en la base externa de la flor. **e)** Lagartija tocando las anteras, observándose el estigma abierto. **f)** Polilla tocando las anteras. **g)** Murciélago buscando néctar y tocando ambas partes reproductoras de la flor. **h)** Cucaracha visitando la flor. **i)** Hormiga en el limbo de la flor.

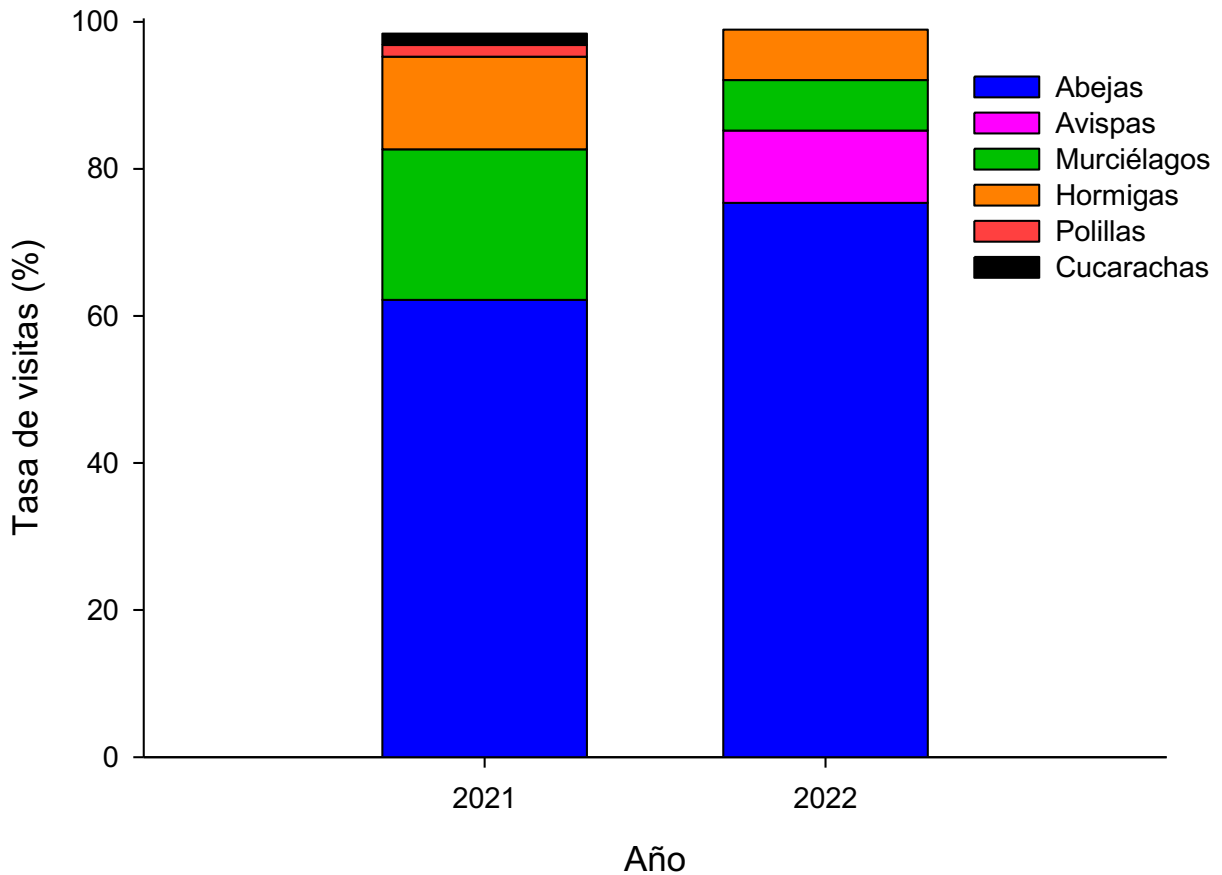


Figura 6. Tasa de visitas en flores de *Crescentia alata* en el año 2021 y 2022. Solo se consideraron visitantes con valores de tasa de visitas mayores al 1%.

Los visitantes florales mostraron patrones de visitas muy diferentes para ambos años, observándose que, en el 2021, el pico de visita por abejas fue a las 18:30 h con 45 visitas; mientras que en el año 2022 su pico de visitas fue alrededor de las 19:00 h con 296 visitas, disminuyendo su frecuencia entre las 19:30 h y repuntando a las 20:00 h con 236 visitas, las cuales entraban a la flor aun estando cerrada. Las avispas presentaron un pico de actividad a las 19:30 h con 45 visitas. Para el año 2021, las visitas por murciélagos comenzaron a las 18:30 h, aumentando su frecuencia de visitas conforme pasaban las horas, presentando un pico de visita a las 20:30 h con 12 visitas, mientras que para el año 2022, las visitas comenzaron a las 20:30 h, aumentando progresivamente hasta las 21:30 h con 23 visitas. Los murciélagos visitaron la flor en menos de un segundo, introduciendo su

cabeza y parte del cuerpo. Finalmente, las hormigas presentaron mayor actividad en ambos años a las 21:30 h con 7 y 36 visitas, respectivamente en el año 2021 y 2022 (Figura 7). Es importante mencionar que las abejas removían gran parte del polen de las anteras e incluso provocaban a menudo el cierre del estigma.

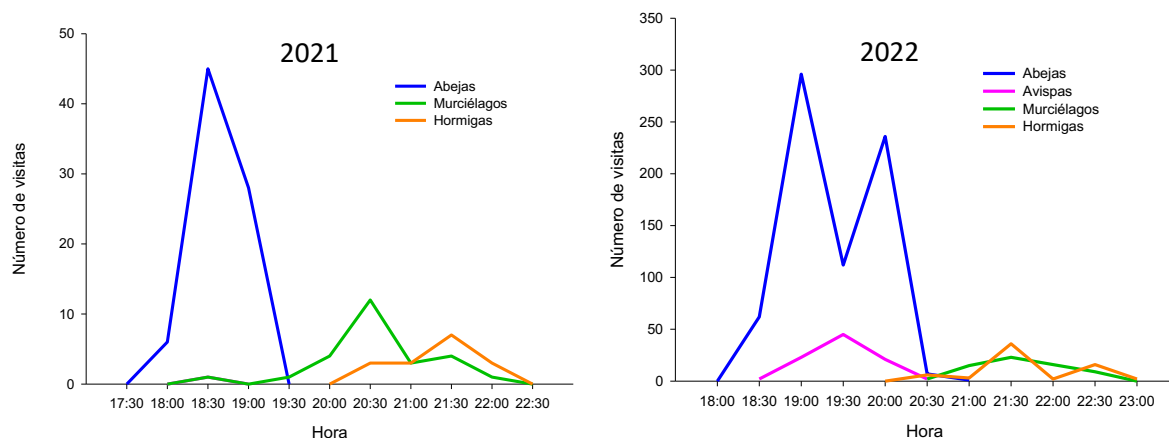


Figura 7. Tiempo de visitas en flores de *Crescentia alata* en los años 2021 y 2022.

Cabe destacar que, de los nueve tipos de visitantes florales registrados, solo las abejas, avispas, murciélagos y polillas fueron los únicos visitantes legítimos registrados, debido a que fueron los únicos que contactaron las partes reproductivas de la flor. Los murciélagos fueron los visitantes de mayor importancia en el año 2021 (63.7%), seguidos por las abejas (36.3%). En contraste, en el año 2022, las abejas fueron más importantes (61.3%), seguidas por los murciélagos (36.0%), las polillas (1.7%) y las avispas (0.8%; Figura 8).

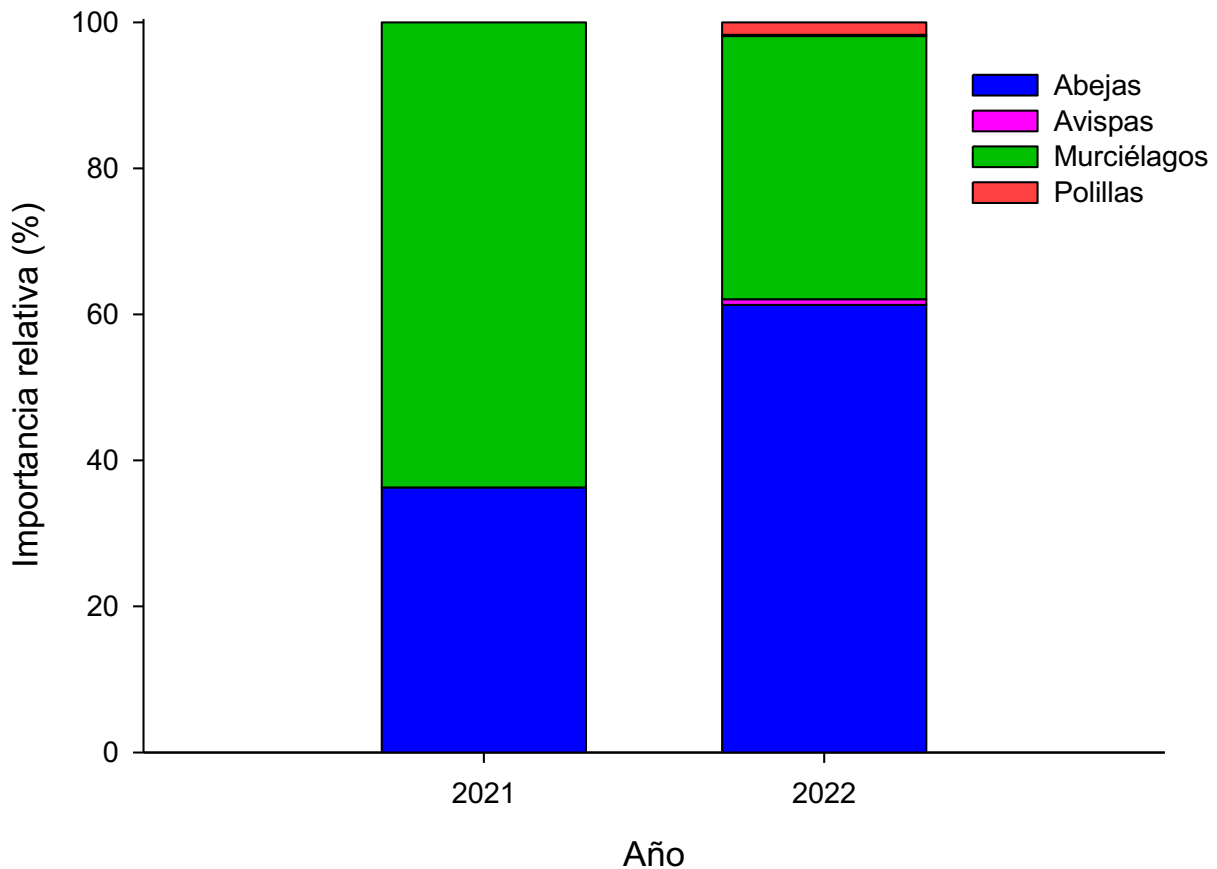


Figura 8. Importancia relativa de los visitantes florales de *Crescentia alata* en el año 2021 y 2022.

3.5. Polinizadores efectivos, importancia y efectividad relativa

La tasa de fructificación mediada por polinizadores diurnos y nocturnos fue nula y muy baja, respectivamente (0.0 vs 0.008), lo que indica que existe gran limitación de polinización por ambos gremios (Tabla 4), siendo el único polinizador efectivo los visitantes legítimos nocturnos. Específicamente, se consideró que los murciélagos fueron los polinizadores más efectivos en ambos años, debido a que éstos contactaron la mayoría de las veces tanto anteras como estigma y porque solamente los visitantes nocturnos produjeron frutos. Por otro lado, los visitantes diurnos no produjeron frutos, por lo que deberían considerarse como ladrones o robadores de polen y/o néctar (Figura 9).

Tabla 4. Polinización efectiva estimada por la tasa de fructificación por visitantes diurnos y nocturnos en *Crescentia alata* en Técpan de Galeana, Guerrero.

Tratamiento	Árbol ¹									Total ²
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Polinización diurna	0 (4)	0 (17)	0 (13)	0 (10)	0 (15)	0 (15)	0 (38)	0 (10)	0 (10)	0 (132) [0.0]
Polinización nocturna	0 (4)	1 (22)	0 (13)	0 (10)	0 (15)	0 (15)	0 (33)	0 (10)	0 (10)	1 (132) [0.0075]
Tipo de polinización	Resultado		Interpretación							
Polinización nocturna	0.8		Polinizadores nocturnos poco efectivos o alta limitación de polinización nocturna							
Polinización diurna	0.0		Polinizadores diurnos no efectivos o total limitación de polinización diurna							

¹ Números entre paréntesis indican el total de flores por tratamiento por árbol. Letras mayúsculas indican los árboles a los que se aplicaron los tratamientos (ver detalles por árbol en Tabla S2). ² Números entre corchetes y en negritas indican la tasa de fructificación por tratamiento.

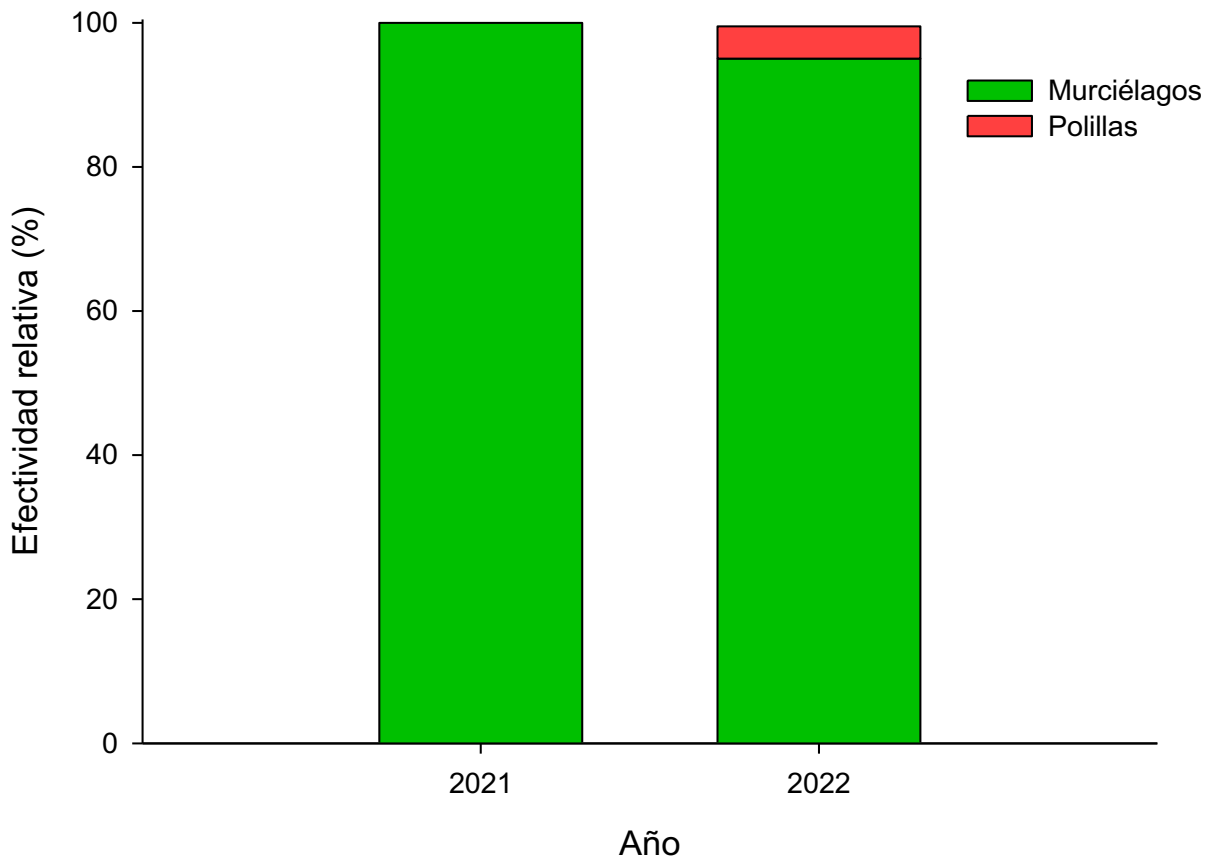


Figura 9. Efectividad relativa de los visitantes florales de *Crescentia alata* en el año 2021 y 2022.

IV. DISCUSIÓN

Tal como se esperaba, los murciélagos fueron los polinizadores efectivos más importantes del cirián, el cual resultó ser exclusivamente exógamo, con alta limitación de polen y muy baja tasa de fructificación natural. En general, las plantas producen un exceso de flores que no desarrollarán frutos, siendo aún más baja la tasa de fructificación en especies autoincompatibles (Gentry 1990). Diversas hipótesis mutuamente no excluyentes han tratado de explicar la baja producción de frutos y la alta tasa de aborción de flores y frutos en las plantas, destacando entre ellas la limitación de polen o de polinizadores, la transferencia de polen incompatible o de baja calidad y la limitación de nutrientes

maternos (Stephenson 1981, Bawa y Webb 1984, Sutherland 1987, Charlesworth 1989, Waser y Price 1991, Rodrigues-Correia et al. 2005).

La nula producción de frutos, resultado de los tratamientos de autopolinización y polinización abierta, indica que el cirrián presenta tanto un sistema de apareamiento completamente autoincompatible como una extrema limitación de polen. De igual manera, en Chamela, Jalisco, tanto Uribe-Villavicencio (2007) como Maldonado-López (2008) reportaron para esta especie una baja o nula producción de frutos por autopolinización (2 y 0%) y por polinización abierta (21 y 1%), aunque una variable producción de frutos por polinización cruzada (78 y 8%, respectivamente). La discrepancia del presente estudio con Uribe-Villavicencio (2007) con relación a la polinización abierta puede deberse a las visitas constantes de abejas que removían gran parte de polen, al escaso avistamiento por murciélagos considerados como polinizadores efectivos y a la posible saturación de polen en el estigma debido a la poca distancia entre antera y estigma que se encontró en nuestra área de estudio, lo cual imposibilita la transferencia de polen compatible y contribuye a la autopolinización. Por otro lado, las diferencias entre los estudios mencionados anteriormente (78 vs 8%) y el resultado obtenido en este estudio (55%) con relación a la tasa de fructificación por polinización cruzada se pueden deber a diferencias en la deposición de polen incompatible o de baja calidad y cantidad de nutrientes maternos o del ambiente.

Debido a que el cirrián es totalmente autoincompatible, su éxito de fructificación radica en que sus flores reciban polen proveniente de flores de otro árbol conespecífico, es decir, es completamente xenógamo. Estudios previos indican que muchas especies de la familia Bignoniaceae presentan autoincompatibilidad y xenogamia obligada, como *Catalpa speciosa*, *Jacaranda copaia* y *Tabebuia roseo-alba* (Stephenson y Thomas 1977, Motta-Maués et al. 2008, Gandolphi y Bittencourt 2010). Por lo tanto, la xenogamia obligada en el cirrián puede ser un arrastre filogenético que evolucionó como un mecanismo para evitar la autopolinización y promover la polinización cruzada, lo cual aumenta la diversidad genética de las poblaciones. La nula fructificación por polinización abierta comparada con la polinización cruzada, indica que presenta extrema limitación de

polen, posiblemente causada por la baja calidad y/o cantidad del polen depositado por los polinizadores o de manera indirecta por la interacción con visitantes florales que lleguen antes de la llegada de sus polinizadores más efectivos.

Las plantas polinizadas por murciélagos generalmente son utilizadas como fuentes de polen, muy apreciadas por las abejas, ya que el polen se produce en grandes cantidades, está muy expuesto y contiene concentraciones altas de aminoácidos, lípidos (Howell 1974) y cantidades modestas de almidón (Baker y Baker 1979). Martínez del Río y Bullock (1990) encontraron que las flores de esta especie son parasitadas por dos especies de abejas sociales (i.e., *Partamona bilineata* y *Trigona fulviventris*), las cuales remueven aproximadamente el 40% de la producción total de néctar y cerca del 100% del polen que se produce antes de la llegada de sus polinizadores. De igual manera, en el presente estudio se registraron numerosas visitas de abejas melíferas (*Apis mellifera*) previas al anochecer, las cuales dejaban las anteras generalmente sin polen. Aunado a esto, las abejas usualmente provocaban el cierre del estigma de la flor cuando lo rozaban, el cual muchas veces no volvía a abrirse. Por lo tanto, se consideran a estas abejas como explotadoras del mutualismo existente entre los murciélagos y el cirián, ya que disminuyeron la cantidad de polen necesaria para la polinización mediada por los murciélagos. Tal como menciona Mazzei et al. (2020) en flores de zapallo (*Cucurbita* spp.), la presencia de otros grupos puede interferir con las visitas de los polinizadores y tener un impacto en la transferencia de polen para la planta.

Como se mencionó anteriormente, la baja producción de frutos también puede deberse a la limitación de nutrientes maternos. Sutherland (1986), quien realizó una revisión de diferentes estudios, incluyendo 447 especies de plantas que variaban en su sistema de apareamiento, formas de vida y polinización, encontró que la causa de la baja tasa de fructificación en estas plantas podría estar influenciada principalmente por la limitación de recursos. Tanto la moderada tasa de fructificación producto de la polinización cruzada como las diferencias en la tasa de fructificación, tamaño y peso de los frutos provenientes de la polinización cruzada entre distintos árboles del cirián encontrada en este estudio sugieren que dicha limitación por recursos podría estar

ocurriendo. Por ejemplo, a pesar de que la tasa de fructificación de los árboles B y G fue similar (0.64 y 0.68, respectivamente), el tamaño y peso promedio de los frutos fue significativamente diferente, sugiriendo diferencias en la cantidad de recursos entre árboles. No obstante, estas diferencias en tamaño y peso de los frutos también se pueden atribuir a otros factores abióticos o bióticos. Por ejemplo, se ha reportado que la falta de humedad y el daño foliar por herbívoros reducen el número de frutos en el cirrián (Valverde-Rodríguez et al. 2019) y que la fuente del polen tiene un efecto significativo en el peso y tamaño del fruto de la chirimoya (Apolonio et al. 2015).

Otro factor importante a considerar que puede influir en la baja tasa de fructificación es la baja hercogamia encontrada en esta especie. Generalmente, una amplia distancia antera-estigma llega a estar acompañada de sistemas de autoincompatibilidad, actuando como un mecanismo que reduce tanto la interferencia reproductiva y la autopolinización, al mismo tiempo que promueve la polinización cruzada (Barrett 2003, Martínez-Peralta et al. 2014). Sin embargo, en este estudio se encontró que el cirrián presentó en promedio poca separación entre antera y estigma (2.62 cm) e incluso dos flores no presentaron hercogamia. Por lo tanto, es muy probable que ocurra la autopolinización, ya sea espontánea o mediada por animales, provocando la saturación de polen propio en el estigma, impidiendo el desarrollo de los frutos, debido a que *C. alata* es totalmente autoincompatible.

Aunado a esto, el cirrián posee un estigma bilabiado que se cierra al contacto con el polen, lo cual parece impedir la polinización mediada por los murciélagos, ya que el estigma puede ser muchas veces rozado por los visitantes florales crepusculares, particularmente las abejas melíferas que entran en contacto con el estigma provocando su cierre, ya que el estigma rara vez se vuelve a abrir. En *Tecoma radicans*, una liana bignoniácea, también se ha descrito la falta de reapertura del estigma tras ser tocado (Newcombe 1922). Por tanto, el enigmático cierre del estigma presente en esta especie puede resultar en una desventaja adaptativa si ocurre antes de la llegada de los polinizadores efectivos (Fetscher y Kohn 1999, Somanathan y Borges 2001, Yang et al.

2004) y, como destacan Sritongchuay et al. (2010), esta desventaja es mayor en plantas con limitación de polen.

Las flores del cirián atrajeron gran diversidad de visitantes diurnos (moscas, colibríes, avispas y abejas) y nocturnos (hormigas, murciélagos, polillas, lagartijas y cucarachas). Esta gran diversidad de visitantes florales coincide con lo hallado por Uribe-Villavicencio (2007), Maldonado-López (2008) y Thompson (2014), quienes han reportado a algunos de estos visitantes para *Crescentia alata*. A pesar de la gran variedad de visitantes florales, únicamente las abejas, avispas, polillas y murciélagos tuvieron contacto con las partes reproductivas de la flor y fueron considerados como visitantes legítimos. Sin embargo, solo los murciélagos y polillas fueron considerados como polinizadores efectivos, ya que solo las flores con exclusión de visitantes diurnos produjeron frutos. Por lo anterior, todos los visitantes diurnos fueron considerados como ladrones de néctar y/o polen, similar a lo reportado por Winter y Helversen (2001), que registraron a colibríes, avispas y abejas como robadores de néctar en flores polinizadas por murciélagos, y Martínez del Río y Bullock (1990), que consideraron a las abejas como parásitos del cirián.

Las características de la flor del cirián, tales como su estructura robusta, color rojo oscuro, apertura floral crepuscular y gran producción nocturna de néctar y polen, concuerdan con el síndrome de quiropterofilia (Faegri y Van der Pijl 1979, Rosas-Guerrero et al. 2014). Esto sugiere que los murciélagos son los polinizadores más efectivos de esta planta y han sido los responsables de la evolución de dichos caracteres florales. En congruencia con lo anterior, en este estudio se encontró que los murciélagos son los polinizadores más efectivos del cirián, ya que son visitantes frecuentes, tienen contacto constante con las partes reproductivas de la flor y son capaces de transportar polen de otros individuos, con lo cual favorecen la exogamia, indispensable para el éxito reproductivo de esta bignoniácea. De hecho, se ha argumentado que los murciélagos son muy efectivos como polinizadores, debido a que suelen visitar varias flores durante su forrajeo y acarrear grandes cargas de polen entre árboles (Heithaus et al. 1975, Howell 1979, Lemke 1985, Eguiarte et al. 1987), e incluso desplazarse largas distancias

promoviendo el cruzamiento entre parches de hábitats fragmentados (Heithaus et al. 1975, Eguiarte et al. 1987, Law y Lean 1999, Maldonado-López 2008).

Se descarta a las hormigas como posibles polinizadores, ya que nunca tuvieron contacto con las partes reproductivas durante sus visitas, lo cual concuerda con lo observado por Uribe-Villavicencio (2007) y Maldonado-López (2008). No obstante, es probable que la presencia de hormigas en las flores se deba a que actúan como un sistema de defensa contra los herbívoros. Estudios previos han encontrado en algunas especies de bignoniáceas la producción de nectarios extraflorales que atraen a hormigas (Gentry 1974). Aunque se desconoce si esto ocurre en *C. alata*, Elias y Prance (1978) describieron la presencia de nectarios extraflorales en *C. cujete*.

Las abejas y avispas fueron los visitantes más constantes en ambos años, las cuales entraban a la flor aun estando cerrada. Cuando se encontraba abierta, la mayoría de las veces tuvieron contacto con las anteras, pero pocas veces con el estigma. Debido a que la producción de frutos mediante las polinizaciones abiertas fue nula, no se consideran a las abejas y avispas como polinizadores efectivos.

Los colibríes visitaban la flor haciendo un pequeño orificio por los lados con su pico y provocando su marchitez a los pocos minutos, por lo cual no fueron considerados como polinizadores del cirián. Asimismo, no se observó contacto con anteras ni estigma y se registró una baja tasa de visitas. Por todo lo anterior, se consideraron a los colibríes como antagonistas ladrones de néctar.

A pesar de que la lagartija o salamanquesa común, *Hemidactylus frenatus*, llegó a contactar las anteras y el estigma, no se consideraron polinizadores importantes del cirián, debido a su baja tasa de visitas. Estos visitantes se encuentran en zonas urbanas y se alimentan de pequeños insectos (Devan-Song 2012). Éste sería el primer registro para *Crescentia alata*, ya que solo se ha registrado en *C. cujete*, donde se le considera como un polinizador potencial, debido a que se observó polen adherido al hocico y a que su cuerpo entró en contacto con el estigma de la flor (Tanalgo y Hughes 2017).

Las polillas solo alcanzaron el 2 y 0.3 % del total de visitas para ambos años y solo algunas veces presentaban contacto con las anteras o el estigma. En consecuencia, se consideraron como polinizadores secundarios, ya que no se puede descartar su posible contribución al servicio de polinización debido a que se obtuvieron frutos en el tratamiento de polinización nocturna.

Finalmente, aunque los murciélagos mostraron bajos patrones de visitas, tocaron frecuentemente las anteras y el estigma al momento de consumir néctar. Por lo anterior y debido a que existió producción de frutos en el tratamiento de polinización nocturna, se consideraron como los polinizadores efectivos más importantes del cirrián.

V. CONCLUSIONES

El éxito reproductivo de muchas especies de plantas depende de la disponibilidad de vectores y de la eficiencia de éstos al polinizarlas (Lemke 1985, Eguiarte et al. 1987, Valiente-Banuet et al. 1996). En este estudio, se encontró que el cirrián es una especie que presenta muy baja producción de frutos, lo cual puede deberse a la escasez de polinización mediada por murciélagos, pero también a la incapacidad que tiene de producir frutos con su propio polen, la poca distancia de antera y estigma y el robo de polen provocado por las abejas. A pesar de que los murciélagos son capaces de desplazarse por sitios perturbados (Maldonado-López 2008) y de depositar polen genéticamente compatible (Thompson 2014), el robo de polen y el cierre del estigma provocado por las abejas (principalmente por *Apis mellifera*), efectuado antes de las visitas de los murciélagos a las flores, imposibilita su labor de transferencia de polen compatible. Este estudio aporta información valiosa acerca de los visitantes antagonistas, visitantes legítimos, polinizadores efectivos, sistema de compatibilidad y limitación de polen del cirrián, la cual es indispensable para identificar algunas de las posibles causas del bajo éxito reproductivo que tiene esta especie de bignoniácea de gran importancia ecológica, económica y cultural.

Por todo lo anterior, es necesario implementar estrategias que favorezcan la polinización mediada por murciélagos, incluyendo plantaciones de árboles de *C. alata*, conservación de remanentes de selva y minimizar el uso de colmenas de abejas europeas, para evitar que esta especie de árbol desaparezca de la región y, consecuentemente la provisión de bienes y servicios que aporta, como provisión de agua, madera, medicina y utensilios, así como alimento y refugio a diversas especies de animales, claves para el mantenimiento de la biodiversidad y funcionamiento de los ecosistemas.

VI. RECOMENDACIONES DE TRABAJOS FUTUROS

- Evaluar si la limitación de recursos afecta la fructificación del cirián.
- Identificar a los visitantes florales a nivel de especie y estimar sobre la cantidad de recompensas que consumen.
- Realizar estudios similares en otros sitios donde haya poca abundancia de abejas para observar si existe algún efecto en la reproducción del cirián, así como en el comportamiento de sus polinizadores efectivos.
- Evaluar el efecto del robo de polen y la presencia de parásitos sobre el comportamiento de los polinizadores y en la reproducción del cirián.
- Comparar el nivel de hercogamia en otras localidades que difieran en su sistema de apareamiento o de polinización.
- Evaluar en diferentes sitios si condiciones como el suelo, agua, radiación u otros factores ambientales, afectan su tasa de fructificación.
- Comparar si la distancia hacia parches de bosques afecta la presencia de sus principales polinizadores.
- Valorar económicamente el servicio de polinización que brindan los murciélagos en el cirián.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Dugua, X., y Casas, A. 2023. *Crescentia alata* Kunth, *Crescentia cujete* L. Bignoniaceae. En: Ethnobotany of the Mountain Regions of México. A. Casas, J. J. Blancas Vázquez (eds.), Springer. Pág. 1225-1234.
- Apolonio, I., Castañeda, A., Franco, O., Morales, E. J., y González, A. 2015. Influencia de la fuente de polen y su efectividad en la calidad de frutos de Chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Agronomía Costarricense. 39 (1). Pág. 61-69.
- Badano, E. I., Schlumpberger, B. O. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del Noroeste Argentino. Gayana Botanica. Concepción. 58 (2). Pág. 115-122. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071766432001000200002&script=sci_arttext&lng=en#Font1985.
- Baker, H. G., y Baker, I. 1979. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. American Journal of Botany. 66 (5). Pág. 591-600.
- Barrett, S. C. H. 2002a. The evolution of plant sexual diversity. Nature Reviews Genetics. 3. Pág. 274-284.
- Barrett, S. C. H. 2002b. Sexual interference of the floral kind. Heredity. 88. Pág. 154-159.
- Barrett, S. C. H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. Philosophical Transactions: Biological Sciences. The Royal Society. 358 (1434). Pág. 991-1004.
- Bass, J. J. O. 2004. Incidental Agroforestry in Honduras: The jícaro tree (*Crescentia* spp.) and pasture land use. Journal of Latin American Geography. University of Texas Press. 3 (1). Pág. 67-80.

- Bawa, K. S., Perry, D. R., y Beach, J. H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. Part I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. *American journal of Botany*. 72 (3). Pág. 331-345.
- Bawa, K. S., y Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany*. 71 (5). Pág. 737-751.
- Bertin, R. I., y Sullivan, M. 1988. Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans*. *American Journal of Botany*. 75 (8). Pág. 1140-1147.
- Bye, R., L. Cervantes y B. Rendón. 2002. Etnobotánica en la región de Chamela, Jalisco, México, pp. 545-559. En: Historia natural de Chamela. F. A. Noguera, J. H. Vega Rivera, A. N. García-Aldrete y M. Quesada Avendaño (Eds.). Instituto de Biología, UNAM, México D. F. Págs. 568.
- Cajas-Giron, Y. S., y Sinclair, F. L. 2001. Characterization of multistrata silvopastoral systems on seasonally dry pastures in the Caribbean Region of Colombia. *Agroforestry systems*. 53 (2). Pág. 215-225.
- Carrasco, L. Y. L., y Salmerón, H. M. A. 2017. Proporcionar valor agregado a los jicaros silvestres (*Crescentia alata*) con la elaboración de carbón vegetal en el periodo de enero a diciembre 2014. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-Leon. Págs. 47.
- Carreño-Barrera, J., Maia, A. C. D., Colombo, C. A., y Núñez-Avellaneda, L. A. 2021. Co-pollination, constancy, and efficiency over time: small beetles and the reproductive success of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) in the Colombian. *Botanical letters*. 168 (3). Pág. 395–407.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2022. La polinización. Biodiversidad Mexicana. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/procesos/polinizacion>

Corrales, C. V., Flidel, G., Perez, A. M., Servent, A., Prades, A., Dornier, M., Lomonte, B., y Vaillant, F. 2016. Physicochemical characterization of jicaro seeds (*Crescentia alata* H.B.K.): A novel protein and oleaginous seed. Journal of Food Composition and Analysis. 56. Pág. 84-92.

Charlesworth, D. 1989. Evolution of low female fertility in plants: pollen limitation, resource allocation and genetic load. Tree. 4 (10). Pág. 289-292.

Charlesworth, D. 2006. Evolution of plant breeding systems. Current Biology. 16 (17). Pág. 726–735.

Dafni, A. 1992. Pollination Ecology A Practical Approach. Oxford University Press, New York.

De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility in angiosperms: Monographs on theoretical and applied genetics 3. Springer-Verlag. New York. Págs. 312.

De Nettancourt, D. 1977. Incompatibilidad en angiospermas. Sex Plant Reprod. 10. Pág. 185-199.

Delgado-González, C. R. 2018. Magnoliophyta: diversidad y evolución de sistemas de apareamiento en flores hermafroditas. Escuela Preparatoria Número 2. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa2/article/view/2851/2874>

Devan-Song, A., y Brown, R. M. 2012. Amphibians and reptiles of Luzon Island, Philippines. VI. The herpetofauna of the Subic Bay Area. Asian Herpetological Research. 3 (1). Pág. 1-20.

- Eguiarte, L., Martínez del Río, C., y Arita, H. 1987. El néctar y el polen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (HBK) Dugand. *Biotropica*. 19 (1). Pág. 74-82.
- Elias, S. T., y Prance, G. T. 1978. Nectaries on the fruit of *Crescentia* and other Bignoniaceae. *Brittonia*. 30 (2). Pág. 175-181.
- Enciclovida. Coatecomate (*Crescentia alata*). Mapa de distribución. Consultado el 01 de agosto del 2025. <https://enciclovida.mx/especies/168576-crescentia-alata>
- Faegri, K., y Van Der Pijil, L. 1966. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford.
- Faegri, K., y Van Der Pijil, L. 1979. The principles of pollination ecology. 3ra edition. Toronto: Pergamon Press. Págs. 247.
- Fetscher, A. E., y Kohn, J. R. 1999. Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *American of Journal Botany*. 86 (8). Pág. 1130–1135.
- Figueroa-Castro, D. M. 2024. La polinización, los polinizadores, y su importancia en los ecosistemas. *Elementos* 133. Pág. 85-90.
- Fleming, T. H., Geiselman, C., y Kress, W. J. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*. 104. Pág. 1017-1043.
- Franklin, E. C. 1970. Survey of mutant forms and inbreeding depression in species of the family Pinaceae. U. S. Department of Agriculture - Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station. Asheville, North Carolina. 61.
- Gandolphi, G y Bittencourt Jr, N. S. 2010. Sistema reproductivo do Ipê-Branco – *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae). *Acta Botanica Brasilica*. 24 (3). Pág. 840-851.
- Gentry, A. H. 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 61 (3). Pág. 728-759.

- Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae: part 1 (Crescentieae and tourrettieae). Flora neotropica. 25. Pág. 1-130.
- Gentry, A. H. 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. Memoirs of the New York Botanical Garden. 55. Pág. 118-129.
- Heithaus, E. R. 1982. Coevolution between bats and plants. En T. H. Kunz (editor). Ecology of bats. Plenum publishing corporation. Pág. 327-367.
- Heithaus, E. R., Fleming, T. H., y Opler, P. A. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. Ecology. 56 (4). Pág. 841-854.
- Herlihy, C. R., y Eckert, Ch. G. 2007. Evolutionary analysis of a key floral trait in *Aquilegia canadensis* (ranunculaceae): genetic variation in herkogamy and its effect on the mating system. Evolution. 61 (7). Pág. 1161-1174.
- Hernández, R. E. A., y Campos, S. A. R. 2007. Utilización del zumo de jícara (*Crescentia cujete*) en el tratamiento de la Dermatomicosis en terneros de la raza Reina en la Finca Santa Rosa de la UNA. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Ciencia Animal. Managua, Nicaragua. Págs. 60.
- Howell, D. J. 1974. Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily. Comparative Biochemistry and Physiology. 48 (2). Pág. 263-276.
- Howell, D. J. 1979. Flock foraging in nectar-feeding bats: advantages to the bats and to the host plants. The American Society of Naturalist. 114 (1). Pág. 23-49.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2010. Compendio de información geográfica municipal 2010. Técpan de Galeana, Guerrero. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/12/12057.pdf

- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2023a. Las Tunas, Técpan de Galeana, Guerrero (120570386). México en cifras. <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=120570001#collapse-resumen>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2023b. “Villa Rotaria, Técpan de Galeana, Guerrero (120570097).” México en cifras. <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=120570097>
- Janzen, D. H. 1982a. How and why horses open *Crescentia alata* fruits. *Biotropica*. 14 (2). Pág. 149-152.
- Janzen, D. H. 1982b. Fruit traits, and seed consumption by rodents, of *Crescentia alata* (Bignoniaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *American Journal of Botany*. 69 (8). Pág. 1258-1268.
- Janzen, D. H. 1991. *Crescentia alata* (Bignoniaceae). En: Janzen D (ed) *Historia Natural de Costa Rica*. Traducción por Manuel Chavarría A. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Pág. 225–227.
- Janzen, D. H., y Martin, P. S. 1982. Neotropical anachronisms: the fruits the gomphotheres ate. *Science, New Series*. 215 (4528). Pág. 19-27.
- Janzen, D. H., y Wilson, D. E. 1991. Mamíferos, Capítulo 9. En: Janzen, D. H (ed). *Historia Natural de Costa Rica*. Traducción por Manuel Chavarría A. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Pág. 439-456.
- Jarquín, M. J. M. 2012. Propuesta de inversión en sistemas silvopastoriles sostenibles en bosques de trópico seco. *Red Académica Iberoamericana Local Global*. 5 (15). Pág. 1-13. Nicaragua.
- Jiménez-Durán, K., y Cruz-García, F. 2011. Incompatibilidad sexual, un mecanismo genético que evita la autofecundación y contribuye a la diversidad vegetal. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34 (1). Pág. 1-9.

- Kearns, C. A., e Inouye, D. W. 1993. Techniques for pollination biologist. University Press of Colorado. Págs. 583.
- Kearns, C. A., Inouye, D. W., y M. Waser, N. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. Annual Review of Ecology and Systematics. 29. Pág. 83-112.
- Keller, L. F., y Waller, D. M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. Trends in Ecology & Evolution. 17 (5). pág. 230-241.
- Knudsen, J. T., y Tollsten, L. 1995. Floral scent in bat-pollinated plants: a case of convergent evolution. Botanical Journal of the Linnean Society. 119. Pág. 45-57.
- Larson, B. M. H., y Barrett, S. C. H. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. Biological Journal of the Linnean Society. 69 (4). Pág. 503-520.
- Law B. S., y Lean, M. 1999. Common blossom bats (*Syconycteris australis*) as pollinators in fragmented Australian tropical rainforest. Biological Conservation. 91. Pág. 201-212.
- Lemke, Thomas. O. 1985. Pollen carrying by the nectar-feeding bat *Glossophaga soricina* in a suburban environment. Biotropica. 17 (2). Pág. 107-111.
- López, T. P., Arteaga, L. L., y Ferrufino, L. 2014. Anatomía de los órganos vegetativos y reproductivos de *Crescentia alata* y *Crescentia cujete* (Bignoniaceae). Revista Portal de la Ciencia. 6. Pág. 27-36.
- Lott, E. J. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of the Chamela bay region, Jalisco, México. Occasional papers of the California Academy of Sciences. Págs. 60.
- Lott, E. J. 2002. Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela-Cuixmala. Historia Natural de Chamela. Pág. 99-136.
- Maldonado-López, S. 2008. Efecto de la perturbación del bosque sobre la actividad de murciélagos polinizadores y la reproducción de *Crescentia alata*. Tesis de Maestría.

Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán.

- Mandujano, M. C., Carrillo-Ángeles, I., Martínez-Peralta, C., y Golubov, J. 2010. Reproductive biology of Cactacea. K. G. Ramawat (ed): Desert Plants Biology and Biotechnology. M.L. Sukhadia University. India. Pág. 197-230.
- Martínez del Río, C y Bullock, S. H. 1990. Parasitismo floral por abejas sociales (Meliponinae; Apidae) en el árbol quiropterófilo *Crescentira alata* (Bignoniaceae). Boletín de la Sociedad Botánica de México. 50. Pág. 69-76.
- Martínez-Peralta C., Márquez-Guzmán, J y Mandujano, M. C. 2014. How common is self-incompatibility across species of the herkogamous Genus *Ariocarpus*? American Journal of Botany. 101 (3). Pág. 530-538.
- Martínez-Ramos, L. M., Mejía, R. M., Rojas, A. M., Mandujano, M, C. 2017. La hercogamia como indicador del sistema reproductivo de *Thelocactus leucacanthus* spp. *schmollii*. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 62 (1). Pág. 13-22.
- Mazzei, M. P., Vesprini, J. L., Galetto, L. 2020. Visitantes florales no polinizadores en flores del género *Cucurbita* y su relación con la presencia de abejas polinizadoras. Acta Agronómica. 69 (4). Pág. 256-265.
- Mitton, J. B., Linhart, Y. B., Davis, M. L., y Sturgeon, K. B. 1981. Estimation of outcrossing in *Ponderosa pine*, *Pinus ponderosa* Laws., from patterns of segregation of protein polymorphisms and from frequencies of albino seedlings. Silvae Genética. 30 (4/5). Pág. 117-121.
- Motta-Mués, M., M. de Oliveira, P. E., y Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. Revista Brasil. Bot. 31 (3). Pág. 517-527.
- Newcombe, F. C. 1922. Significance of the behavior of sensitive stigmas. American Journal of Botany. 9 (3). Pág. 99–120.

- Núñez-Avellaneda, L. A., y Rojas-Robles, R. 2008. Biología reproductiva y ecología de la polinización de la palma milpesos *Oenocarpus bataua* en los Andes Colombianos. *Ecología. Caldasia*. 30 (1). Pág. 101–125.
- Oceguera-Zalazar, K. A., y R-Fernández, R. C. 2000. Cambios en la abundancia y la utilización de recursos florales a través de un año en los murciélagos nectarívoros de la región de Chamela, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Campus-Iztacala. Págs. 55.
- Olivares-Pérez, J., Rojas-Hernández, S., Quiroz-Cardozo, F., Camacho-Díaz, L.M., Cipriano-Salazar, M., Damián-Valdez, M. A., Ávila-Morales, B., y Villa-Mancera, A. 2018. Diagnóstico de los usos, la distribución y características dasométricas del árbol cirían (*Crescentia alata kunth*) en el municipio de Pungarabato, Guerrero, México. *Polibotánica*. 45. Pág. 191-204.
- Ollerton, J., Winfree, R., y Sam Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos*. 120. Pág. 321-326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Osorio, Laura, Mas, F., Guerra, F., Maass, M., 2015. Análisis y modelación de los procesos de deforestación: un caso de estudio en la cuenca del río Coyuquilla, Guerrero, México. *Investigaciones Geográficas*. Pág. 60–74.
- Pellmyr, O. 2002. Pollination by animals. In *Plant animal interactions; an evolutionary approach*. C. M. Herrera y O. Pellmyr (eds.). Blackwell, Oxford. Pág. 157–184.
- Podolsky, Robert. D. 1992. Strange floral attractors: pollinator attraction and the evolution of plant sexual systems. *Science*. 258. Pág. 791-793.
- Quesada, M., Stoner, K. E., Lobo, J. A., Herrerías- Diego, Y., Palacios- Guevara, C., Munguía-Rosas, M. A., O- Salazar, K. A., y Rosas- Guerrero, V. 2004. Effects of Forest Fragmentation on Pollinator Activity and Consequences for Plant Reproductive

- Success and Mating Patterns in Bat-pollinated Bombacaceous Trees. *Biotropica*. 36 (2). Pág. 131-138.
- Quesada, M., Stoner, K. E., Rosas-Guerrero, V., Palacios-Guevara, C., y Lobo, J. A. 2003. Effects of habitat disruption on the activity of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: implications for the reproductive success of the neotropical tree *Ceiba grandiflora*. *Ecología. Plant animal interactions*. 135. Pág. 400-406.
- Richards, A. J. 1986. *Plant Breeding Systems*. Chapman & Hall Press. London, England.
- Rodrigues-Correia, M. C, B., Pinheiro, M. C y Alves de Lima, H. 2005. Biología floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniáceas). *Actas Bot. Bras.* 19 (3). Pág. 501-510.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén- Rodriguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., y Quesada, M. 2014. A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*. 17. Pág. 388–400.
- Ruan, C., y Jiang G. B. 2006. Adaptive significance of herkogamy and floral behavior. *Chinese Journal of Plant Ecology*. 30 (02). Pág. 210-220. <https://www.plant-ecology.com/EN/10.17521/cjpe.2006.0030?refererToken>
- Ruiz-Aguilar, M. 2021. Caracterización y Deformación Plástica de la Cáscara del Fruto y Composición Química en Madera de *Crescentia cujete* y *Crescentia alata*. Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. Págs. 69.
- Ruiz-Zapata, T., y Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica*. 10 (3). Pág. 221-230.
- Sánchez-Casas, N., y Álvarez, T. 2000. Palinofagia de los murciélagos del genero *Glossophaga* (Mammalia: chiroptera) en México. *Acta Zoológica Mexicana*. 81. Pág. 23-62.

- SEMARNAT (Secretaria de Medio Ambiente Y Recursos Naturales). 2018. El árbol de las jícaras fortalece nuestros campos. Consultado el 22 de noviembre del 2024. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/el-arbol-de-las-jicar-as-fortalece-nuestros-campos>
- Silva-Martínez, J. A. 2007. Embriología de *Opuntia robusta* Wendland (Cactaceae). Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. Pág. 67.
- Solares, A. F. 2004. Etnobotánica y usos potenciales del cirián (*Crescentia alata*, H.B.K.) en el estado de Morelos. Polibotánica. 18. Pág. 13-31. Departamento de Botánica, Distrito Federal de México.
- Somanathan, H., y Borges, R. M. 2001. Nocturnal pollination by the Carpenter Bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. Biotropica. 33 (1). Pág. 78-89.
- Sperr, E. B., Caballero-Martinez, L. A., Medellin, R. A., y Tschapka, M. 2011. Seasonal changes in species composition, resource use and reproductive patterns within a guild of nectar-feeding bats in a west Mexican dry forest. Journal of Tropical Ecology. 27. Pág. 133-145.
- Sritongchuay, T., Bumrungsri, S., Meesawat, U., and Mazer, S. J. 2010. Stigma closure and re-opening in *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae): Causes and consequences. American Journal of Botany. 97 (1). Pág. 136–143.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. Annual Review of Ecology Systematics. 12. Pág. 253-279.
- Stephenson, A. G., y W. W. Thomas. 1977. Diurnal and Nocturnal Pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). American Society of Plant Taxonomists. Systematic Botany. 2 (3). Pág. 191-198.

- Stoner, K. E., O-Salazar, K. A., Fernández, R. C., y Quesada, M. 2003. Population dynamics, reproduction and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, México: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*. 12. Pág. 357–373.
- Stoner, K. E., Quesada, M., Rosas-Guerrero, V., y Lobo, J. A. 2002. Effects of Forest Fragmentation on the Colima Long-nosed Bat (*Musonycteris harrisoni*) Foraging in Tropical Dry Forest of Jalisco, México. *Biotropica*. 34 (3). Pág. 462-467.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants?. *Evolution*. 40 (1). Pág. 117-128.
- Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental testes with *Agave mckelveyana*. *Evolution*. 4 (4). Pág. 750-759.
- Tanalgo, K. C., y Hughes, A. C. 2017. First evidence of nectarivory by four-clawed gecko, *Gehyra mutilata* (Wiegmann, 1834) (Squamata: Gekkonidae) on a bat-pollinated Calabash tree (*Crescentia cujete* L.) (Bignoniaceae) in Southcentral Mindanao, Philippines. *Herpetology Notes*. 10. Pág. 493-496.
- Thompson, P. G. 2014. Bat pollination, genetic structure and gene flow in *Crescentia alata* trees in Westrn Mexico. UCLA Electronic Theses and Dissertations. Tesis de Doctorado. Universidad de California. Los Angeles. Págs. 145.
- Uribe-Villavicencio, D. 2007. Biología floral y polinizadores del Cuastecomate (*Crescentia alata* KUNTH, Bignoniaceae) en la costa de Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara, México.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M. D. C., Rojas-Martínez, A., y Domínguez-Canseco, L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*. 12 (1). Pág. 103-119.

- Valverde-Rodríguez, K., Morales, C. O., García, E. G. 2019. Fenología de *Crescentia alata* (Bignoniaceae) en Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 67 (2). Pág. 112-119.
- Vergara, C. H., y Badano, E. I. 2009. Pollinator diversity increases fruit production in Mexican coffee plantations: The importance of rustic management systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 129. Pág. 117-123.
- Von Helversen, O., Winkler, L., y Bestmann, H. J. 2000. Sulphur-containing “perfumes” attract flower-visiting bats. *Journal of Comparative Physiology A*. 186. Pág. 143-153.
- Von Helversen, O., y Winter, Y. 2003. Glossophagine bats and their flowers: costs and benefits for plants and pollinators. *Bat Ecology* (T. H. Kunz and M.B. Fenton, eds). University of Chicago Press, Chicago. Pág. 346-397.
- Wagner, P. L. 1964. Natural vegetation of Middle America. In: Robert C. West (ed.) *Handbook of Middle American Indians - Volume 1: Natural Environment and Early Cultures*. Austin: University of Texas Press.
- Waser, N. M., y Price, M. V. 1991. Outcrossing distance effects in *Delphinium nelsonii*: pollen loads, pollen tubes, and seed set. *Ecology*. 72 (1). Pág. 171-179.
- Webb, C. J., y Lloyd, D. G. 1986. The avoidance of interference of pollen and stigmas in angiosperms. II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*. 24. Pág. 163-178.
- Willmer, P. 2011. *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, Princeton and Oxford. https://www.google.com.mx/books/edition/Pollination_and_Floral_Ecology/1_eWTM2_kfcC?hl=es419&gbpv=1&dq=Pollination+and+floral+ecology.&printsec=frontcover
- Winter, Y., y Helversen, O. V. 2001. Bats as pollinators: Foraging energetic and floral adaptations. *Cognitive Ecology of Pollination Animal Behavior and Floral Evolution*. Cambridge University Press. Págs. 344.

- Yang, S. X., Yang, C. F., Zhang, T., y Wang, Q. F. 2004. A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Botanica Sinica-English edition*. 46 (9). Pág. 1071–1074.
- Zamora, S., Garcia, J., Bonilla, G., Aguilar, H., Harvey, C. A., y Ibrahim, M. 2001. ¿Cómo utilizar los frutos de Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), genízaro (*Pithecellobium saman*) y jícara (*Crescentia alata*) en alimentación animal? *Agroforestería en las Américas*. 8 (31). Pág. 45-49.

ANEXOS

Tabla S1. Localidades de Técpan de Galeana, Gro., donde se realizó el estudio.

Localidad	Coordenadas		Características del sitio
	Latitud	Longitud	
Las Tunas	17°14'47.4"	100°37'44.7"	Perturbado, árboles a orilla de carretera, suelo arenoso, tierra, poblado por casas.
Col. Ramos	17°13'46.0"	100°38'12.1"	Perturbado, árboles cercas de carretera, ruido por carros, suelo con tierra y arena, poblado por casas.
Col. Vista Hermosa	17°12'54.7"	100°38'44.0"	Perturbado, árboles dentro de terrenos y cercas de carretera, barranca, suelo arenoso, piedras y tierra, poblado.
Villa Rotaria	17°11'38.3"	100°40'08.7"	Perturbado, árboles en terrenos, cercas de carretera, poblado por casas, suelo con tierra y arena.

Tabla S2. Árboles utilizados para el muestreo (polinizaciones, filmaciones y fructificación) de *Crescentia alata* en las diferentes localidades del municipio de Técpan de Galeana, Gro.

Árbol	Coordenadas			Localidad	Características del sitio
	Latitud	Longitud	Altitud (msnn)		
A	17°14'17.2"	100°37'48.6"	47	Las Tunas	Perturbado, en presencia de poblado a orilla de carretera, ruido por carros, suelo con tierra y arena, lugar sombreado por otro tipo de arbustos.
B	17°14'21.9"	100°38'00.1"	49	Las Tunas	Perturbado, en presencia de poblado a orilla de carretera, dentro de un terreno con cultivo de ajonjolí, suelo con tierra, húmedo por el riego, lugar visible para el sol.
C	17°14'07.2"	100°37'50.5"	42	Las Tunas	Perturbado, en presencia de poblado a orilla de carretera, ruido por carros, suelo arenoso y con tierra, lugar visible para el sol.
D	17°14'01.4"	100°38'02.1"	49	Las Tunas	Perturbado, en presencia de población a orilla de carretera, suelo con tierra y arena, húmedo, lugar visible para el sol.
E	17°13'48.8"	100°38'03.9"	37.	Col. Ramos	Perturbado, en presencia de población a orilla de carretera, ruido por carros, suelo arenoso y con tierra, lugar visible para el sol.
F	17°13'46.4"	100°38'05.8"	41	Col. Ramos	Perturbado, en presencia de población a orilla de carretera, ruido por carros, suelo arenoso con tierra y piedras, húmedo, lugar visible para el sol.
G	17°13'00.1"	100°38'52.3"		Vista Hermosa	Perturbado, dentro de un terreno con cultivo de maíz, cercas de carretera, suelo con tierra, lugar visible para el sol.
H	17°13'00.3"	100°39'02.4"		Vista Hermosa	Perturbado, dentro de un terreno con cultivo de sandía, en barranca, suelo con tierra, arenoso y lleno de piedras, sombreado por otros arbustos y del mismo, cercas de carretera.
I	17°13'00.1"	100°39'01.7"		Vista Hermosa	Perturbado, dentro de un terreno con cultivo de sandía, a orilla de barranca, suelo con tierra y lleno de piedras, cercas de carretera, lugar visible para el sol.
J	17°11'51.0"	100°40'08.8"	19	Villa Rotaria	Perturbado, en presencia de poblado y cercas de carretera, dentro de un terreno, suelo con tierra, húmedo, escurre agua, lugar visible para el sol.



Figura S1. a y b) Árboles de *C. alata*. c) Tronco con flores y botones florales. d) Flor con anteras cerradas. e y f) Frutos jóvenes y maduros adheridos al tronco.

Journal of Plant Research

Invasive honeybees exacerbate the low reproductive success of a bat-pollinated tree --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JPRE-D-25-01172R1
Full Title:	Invasive honeybees exacerbate the low reproductive success of a bat-pollinated tree
Article Type:	JPR Symposium
Funding Information:	
Abstract:	Some bat species play a crucial role as the main effective pollinators of many flowering plants. Nevertheless, other floral visitors may act as antagonists affecting the reproductive success of these plants. In this study, we investigated some potential proximate causes of the extremely low production of fruits of <i>Crescentia alata</i>, a neotropical tree supposedly pollinated by bats that is heavily visited by the introduced honeybee <i>Apis mellifera</i> in Guerrero, southern Mexico. Our results indicate that <i>C. alata</i> had an extremely low natural fruit set (0.2%) and total pollen limitation, probably due to multiple factors, including complete self-incompatible system, low herkogamy, incomplete dichogamy, and the high probability of stigma closure, self-pollen deposition, and pollen removal caused by the numerous visits of the invasive honeybees before the arrival of bats, which were the most effective pollinator of this plant. Nectarivorous bat conservation through forest restoration, as well as a decrease of managed beehives and plantation of genetically diverse individuals, are proposed as strategies to minimize the low reproduction of this neotropical tree of great importance to humans and to the maintenance of tropical dry forests.
Corresponding Author:	Victor Rosas-Guerrero Universidad Autonoma de Guerrero Tecpan de Galeana, Guerrero MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad Autonoma de Guerrero
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Victor Rosas-Guerrero
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Victor Rosas-Guerrero Rodrigo Lucas-García Lorena Alemán-Figueroa Mariana Ceballos-Torres
Order of Authors Secondary Information:	
Author Comments:	Dr. Noriko Inada Editor-in-Chief Journal of Plant Research Dear Dr. Inada, I would like to resubmit the manuscript entitled "Invasive honeybees exacerbate the low reproductive success of a bat-pollinated tree" authored by Víctor Rosas-Guerrero, Rodrigo Lucas-García, Lorena Alemán-Figueroa, and Mariana Ceballos-Torres for publication in the JPR symposium "Biotic interactions and biological invasions" . Our manuscript was evaluated by two anonymous reviewers, who found some issues and suggested major revision. We have considered all the suggested changes and comments and included an itemized response to each one in the Response to reviewer files attached in the submission.

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

1

2

3

4

5

Corresponding author contact:

Victor Rosas-Guerrero. Mailing address: Col. Las Tunas, Tecpan de Galeana, Guerrero, 40900, México. Phone number: +52 1 443 189 6102. E-mail address: victor_rosas@yahoo.com

Subject area:

Ecology/Ecophysiology/Environmental Biology

Number of tables:

1

Number of figures:

8

Invasive honeybees exacerbate the low reproductive success of a bat-pollinated tree

Víctor Rosas-Guerrero^{1,*}, Rodrigo Lucas-García^{1,2}, Lorena Alemán-Figueroa¹, Mariana Ceballos-Torres¹

*Corresponding author

Affiliations:

¹ Escuela Superior en Desarrollo Sustentable, Universidad Autónoma de Guerrero, Tecpan de Galeana 40900, Guerrero, México.

² Posgrado en Recursos Naturales y Ecología, Facultad de Ecología Marina, Universidad Autónoma de Guerrero, Acapulco de Juárez 39390, Guerrero, México.

Email: victor_rosas@yahoo.com (VR-G)

ORCID: 0000-0003-3248-4508

Corresponding author contact: Víctor Rosas-Guerrero; Phone: +52 1 443 189 6102; Address: Col. Las Tunas, Tecpan de Galeana, Guerrero, 40900, México; email: victor_rosas@yahoo.com

Abstract

Some bat species play a crucial role as the main effective pollinators of many flowering plants. Nevertheless, other floral visitors may act as antagonists affecting the reproductive success of these plants. In this study, we investigated some potential proximate causes of the extremely low production of fruits of *Crescentia alata*, a neotropical tree supposedly pollinated by bats that is heavily visited by the introduced honeybee *Apis mellifera* in Guerrero, southern Mexico. Our results indicate that *C. alata* had an extremely low natural fruit set (0.2%) and total pollen limitation, probably due to multiple factors, including complete self-incompatible system, low herkogamy, incomplete dichogamy, and the high probability of stigma closure, self-pollen deposition, and pollen removal caused by the numerous visits of the invasive honeybees before the arrival of bats, which were the most effective pollinator of this plant. Nectarivorous bat conservation through forest restoration, as well as a decrease of managed beehives and plantation of genetically diverse individuals, are proposed as strategies to minimize the low reproduction of this neotropical tree of great importance to humans and to the maintenance of tropical dry forests.

Keywords: *Apis mellifera*, bat pollination, calabash tree, invasive species, pollen theft.

Statements and Declarations

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Introduction

Crescentia alata, a neotropical tree that produces globose cauliflorous fruits, which are widely used for treating respiratory diseases and to manufacture utensils such as bowls and handcrafts like rattles (Cajas-Giron and Sinclair 2001; Aguirre-Dugua and Casas 2023), is propagated only by seeds (Aguirre-Dugua and Casas 2023) and is commonly planted in disturbed areas as pasturelands to provide shade for livestock (Gentry 1974; Janzen 1991; Vázquez-Yanes et al. 1999; Bass 2004). Nevertheless, in several localities in Mexico in the states of Morelos, Jalisco, and Guerrero (Arenas 2004; Uribe-Villavicencio 2007; V. Rosas-Guerrero, personal observation), a deficit in their production of fruits is perceived, which will not only cause shortages in the supply of medicines and utensils but will also jeopardize the maintenance and conservation of this species and the species that depend on it.

Several causes may be related to the low production of fruits in this tree. First, it is a self-incompatible species (Uribe-Villavicencio 2007; Maldonado-López 2008), which means that it depends entirely on pollen vectors that visit genetically different individuals to achieve effective pollination. Second, as in several Bignoniaceae, it has sensitive bilobate stigmas that close by mechanical contact (Newcombe 1922; Bertin 1982; Milet-Pinheiro et al. 2009; Krishna et al. 2023); thus, the first floral visitor that contacts the stigma will restrict future effective pollen deposition if it did not bring compatible pollen. Third, native bees have been reported to be able to remove around 40% of the nectar and damage 80-100% of the anthers before the arrival of their effective pollinators (Martínez del Río and Bullock 1990). Fourth, indirect evidences suggest that it is mainly pollinated by a small bat (i.e., *Glossophaga soricina*; Gentry 1974; Martínez del Río and Bullock 1990; Uribe-Villavicencio 2007; Maldonado-López 2008), which is usually affected by high habitat disturbance (Quesada et al. 2003, 2004; Gorresen and Willig 2004), and given that this tree usually occurs in human-modified landscapes (Cajas-Giron and Sinclair 2001; Aguirre-Dugua and Casas 2023), it will probably experience high pollinator limitation, that is, a reduced reproductive success due to inadequate quantity or quality of pollen receipt. Fifth, their hermaphrodite flowers lack complete dichogamy (Uribe-Villavicencio 2007) and herkogamy (i.e., temporal and spatial separation between anthers and stigma, respectively), which may increase the possibility of stigma clogging with self-pollen, as has been reported in other self-incompatible plant species (e.g., Shore and Barrett 1984; Palmer et al. 1989; Dinnézt 1997; Li et al. 2013). Nevertheless, no study has explored if any of these factors are related to the low production of fruits in this species.

Even when several floral visitors have been reported visiting the flowers of *C. alata*, including ants, bees, moths, hummingbirds, and bats (Martínez del Río and Bullock 1990; Janzen 1991; Uribe-Villavicencio 2007; Maldonado-López 2008), only the latter is considered their main effective pollinator based on the suite of floral traits, which are related to the bat-pollination syndrome (Gentry 1974), and because several nectarivorous bats, mainly *G. soricina* and *Leptonycteris yerbabuenae*, have been observed contacting their anthers and stigma (Gentry 1974; Uribe-Villavicencio 2007; Maldonado-López 2008) or carrying pollen grains in their body (Heithaus et al. 1975; Janzen 1991; Sperr et al. 2011; Thompson 2014) or in their feces (Stoner et al. 2003). Even when there is indirect evidence that bats could be the most effective pollinator, no study so far has evaluated which floral visitor is the main responsible for the fruit production of this plant.

In Tecpan de Galeana, Guerrero, southern Mexico, *C. alata* is commonly found near houses, roads, and pasturelands where most trees produce few mature fruits (V. Rosas-Guerrero, personal observation). Our preliminary observations indicate that the introduced honeybee, *Apis mellifera*, visits their flowers before dusk to collect pollen from the anthers, causing pollen shortage in the flowers before the arrival of bats, their potential effective pollinators. Following the definition of “invasive species” proposed by Daehler (2001), stage V proposed by Colautti and MacIsaac (2004), and the category E of Blackburn et al. (2011); honeybees should be considered as an invasive species in some regions and ecological contexts, such as parts of the Americas, because it is a nonnative organism that was introduced into novel environments, it established itself, spreads rapidly, and impacted native populations, communities, or ecosystems. Indeed, it has been reported that *A. mellifera* alters the foraging behavior and abundance (Butz-Huryn 1997; Angelella et al. 2021) or is detrimental to native pollinators (Schaffer et al. 1983; Roubik 2000; Goulson 2003; Paine 2004; Agüero et al. 2018), acts as floral parasites (Wilson and Thomson 1991; Scaccabarozzi et al. 2024; Medina et al. 2025), or affects the reproductive success of many plant species, whether in the Americas (do Carmo et al. 2004; Angelella et al. 2021; Lucas-García et al. 2026), Oceania (Paton 1993; Gross and Mackay 1998; Celebrezze and Paton 2004; Scaccabarozzi et al. 2024), or oceanic islands such as the Canary Islands (Dupont et al. 2004).

Similar to *C. alata*, several bat-pollinated plants (e.g., Hopkins 1984; Aziz et al. 2017; Baqi et al. 2022; Valido and Olesen 2023) are often visited by a wide array of floral visitors, some acting as nectar or pollen robbers (i.e., obtaining floral rewards by damaging floral structures), or acting as thieves (i.e., obtaining rewards without causing damage but without contributing to pollination; sensu Inouye 1980, 1983). Nevertheless, only a few studies have assessed the role of these antagonists on the reproductive success of these plants (e.g., Sazima and Sazima 1978; Tremlett et al. 2020), and even fewer considering an invasive one (e.g., Medina et al. 2025). We sought to evaluate some potential causes of the low production of fruits of *C. alata*, focusing on the role of the invasive honeybees on the pollination process. To achieve this, we first estimate the natural fruit set of this species to determine how low their reproductive success is, and describe its floral biology, including the time of anthesis, the level of herkogamy and dichogamy, and whether pollen or hair contact triggers stigma closure. Then we determine the visitation rate and behavior of their floral visitors to assess which floral visitors were legitimate (i.e., those that contact the reproductive parts of the flower) and which act as robbers or thieves and how frequently they visit. We also conducted manipulated pollination treatments to determine if there exist pollen limitation and self-incompatibility in this species and to determine which floral visitors effectively pollinate this plant. Finally, we estimate the level of pollen removal by honeybees to evaluate if they may affect the effectiveness of pollinators and the reproductive success of this native neotropical tree. Based on all this information, we expect *C. alata* to exhibit receptive stigma and dehiscent anthers before dusk, low herkogamy and dichogamy, complete self-incompatibility, stigma closure due to contact with hair and pollen, high pollen limitation, high visitation rate of honeybees that acted primarily as pollen thieves, and low visitation of bats that acted as the main effective pollinators.

Materials and methods

Study area

The study area was carried out in the lowlands of the municipality of Tecpan de Galeana, Guerrero, southern Mexico (17° 14' 47.4" N; 100° 37' 44.7" W; ~50 masl). This area has a warm subhumid climate (Aw), with an average annual temperature of 26.6 °C and an average annual precipitation of 1 100 mm, with a rainy period from June to November and a dry period from December to May, where the main native vegetation type is tropical dry forest surrounded mainly by a matrix of agricultural fields of mango, coconut, or pasturelands (INEGI 2015).

Study species

The Mexican calabash, *Crescentia alata* (Kunth) of the Bignoniaceae family, regionally known as “cirián,” “jícara,” or “cuastecomate,” is a medium-sized tree (4–12 m; Janzen 1991; Aguirre-Dugua and Casas 2023), distributed in tropical dry forests from Sonora, northern Mexico, through Costa Rica, mainly along the Pacific slope (GBIF Secretariat 2023). It produces numerous cauliflorous, hermaphrodite and campanulate flowers (Figure 1A). In Tecpan de Galeana, it flowers mostly during the wet season, though some individuals flower continuously throughout the year, similar to those reported by Frankie et al. (1974). In this region, their flowers begin to open around one hour and a half (~18:00) before sunset (~19:30) and last only one night. These flowers display reddish or green corollas with clear stripes (Aguirre-Dugua and Casas 2023) and produce a large amount of nectar (480 and 600 µL per night; Martínez del Río and Bullock 1990; Uribe-Villavicencio 2007; respectively) that peaks around midnight (Uribe-Villavicencio 2007; Maldonado-López 2008). A total of 45 trees were recorded within the study area (Table S1). The mean distance between trees was 2 870 m (range: 7–6 721 m), while the mean nearest-neighbor distance was 116 m (range: 7–490 m; Table SX).

Natural fruit set and floral biology

To estimate the reproductive success of *C. alata* under natural conditions, during October–November 2021 and July 2022, 488 flowers were tagged (~35 flowers per tree) from 14 trees that exhibited high flower production. Each flower was monitored until fruit ripening (Figure 1B) or abortion. Natural fruit set per tree was calculated as the proportion of flowers that developed into mature fruits (Dafni 1992).

Several tagged flower buds were observed at 15-min intervals from 15:45 to 23:00 h in eight trees during October–November 2021 to determine the timing of anthesis (9–60 flowers per tree, $n = 172$), anther dehiscence (8–58 flowers per tree, $n = 167$), and stigma opening (9–61 flowers per tree, $n = 174$). Anther dehiscence was recorded by visual observation of the presence of pollen on the four anthers of flowers using a field magnifying glass (10x). The bilobed stigma was observed and recorded until it was completely open. In addition, on seven trees during June 2022, the pollen viability of completely dehiscent anthers from bagged flowers was evaluated by staining several

pollen grains at three different times (i.e., 19:30, 20:00, and 20:30 h; five flowers at each time interval per tree, n = 105 flowers) in slides using 1-2 drops of Alexander's stain, considering as viable and nonviable pollen grains those that turned dark red or blue-green, respectively (Kearns and Inouye 1993). The proportion of viable pollen grains relative to the total number of pollen grains was recorded and represented as a percentage. Finally, on six trees, every 30-min intervals from stigma opening until around 22:00 h, stigma receptivity (2–7 flowers at each time interval per tree, n = 81) was estimated by putting some drops of a 5% (v/v) hydrogen peroxide solution into the stigma surface, where the presence of several bubbles (with a 10x field magnifying glass) was considered as an indicator of stigma receptivity (Dafni et al. 2005).

Dichogamy was estimated as the overlap in time of anthers dehiscence and pollen viability with the time of stigma receptivity. The degree of herkogamy was determined by measuring the minimum distance between the stigmatic surface and each anther in flowers from six different trees (5 flowers per tree, n = 50) between 22:00 and 22:30 h using a digital caliper (Mitutoyo Corp., CD-8" ASXL, Kanagawa, Japan, accuracy: 0.01 mm).

To determine whether the contact with the hair or pollen stimulated stigma closure, we contacted the stigma with a fine-bristled paintbrush, simulating the contact with animal hair, and with conspecific exogamous pollen grains from two dehiscent anthers of bagged flowers (Figure 1C). Stigma closure was tested on fully opened stigmas of 20 previously bagged flowers. In each treatment, the time of complete stigma closure and reopening was recorded (Figure 1D).

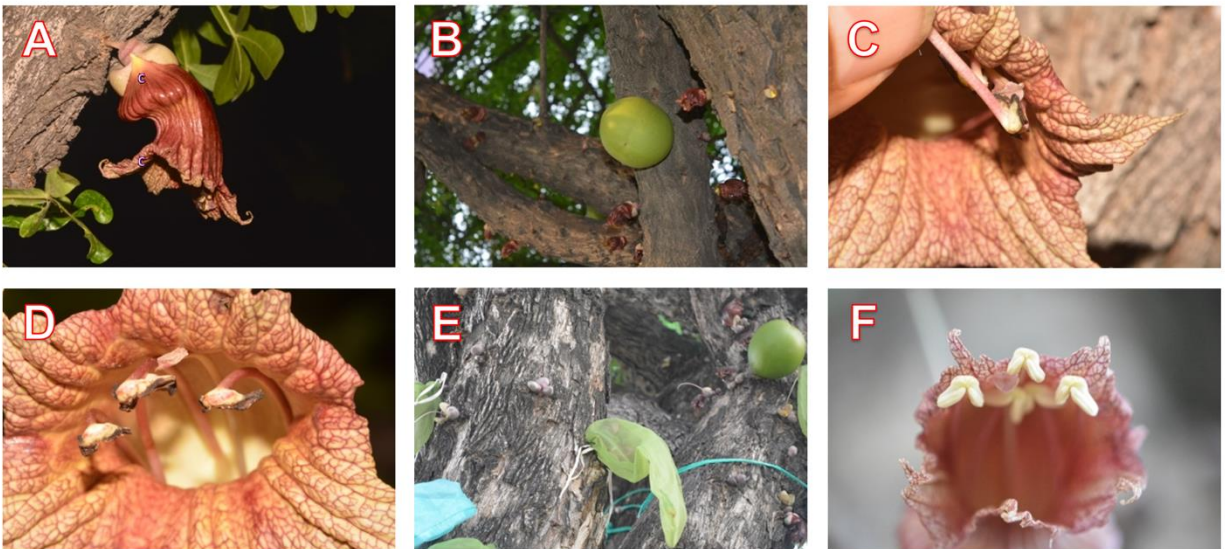


Fig 1 Flowers and fruits of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. (A) Typical flower completely open at night. (B) Mature fruit and flowers before dusk. (C) Contact of open stigma with anthers from another tree to test stigma closure with pollen. (D) Stigma closed after contact with anthers. The anthers appear dark when they experience high removal of pollen grains by honeybees. (E) Bagged flowers before dusk to avoid floral visitors. (F) Example of fresh anthers without pollen removal.

Visitation rate and behavior of floral visitors

To identify floral visitors, 16 flowers were filmed during October–November 2021 and 27 flowers during July 2022 with video cameras (Sony DCR-SR45, FDR AX33, and HDR-CX455) that were positioned close enough to allow the observation of the contact with anthers and stigma of the different floral visitors. Legitimate floral visitors were considered as those that contacted any or both reproductive parts of the flower in a single visit. Flowers per tree were filmed from the beginning of flower anthesis until 4.5 h later, in four episodes of 30 min at one-hour intervals. Floral visitors were classified into nine distinct functional groups (i.e., honeybees, wasps, hummingbirds, ants, cockroaches, lizards, flies, bats, or moths) and according to the time of visit (i.e., crepuscular or nocturnal). The visitation rate (i.e., number of visits per flower per hour), time of visit, duration of visit, and contact with anthers and/or stigma by each functional group were recorded.

Pollen limitation and self-incompatibility

To determine the system compatibility and pollen limitation of *C. alata*, the following three treatments were performed in 2019 and 2021: **Self-pollination** – flowers bagged before opening, pollinated with pollen from their own anthers once they were dehiscent (Figure 1C), and bagged until flower abscission (2019: 8–32 flowers per tree, $n = 84$; 2021: 3–38 flowers per tree, $n = 132$); **Cross-pollination** – flowers bagged before opening (Figure 1E), emasculated and pollinated with dehiscent anthers from another individual's flower and bagged until flower abscission (2019: 7–32 flowers per tree, $n = 83$; 2021: 3–38 flowers per tree, $n = 127$); **Open pollination** – flowers left uncovered without any manipulation (2019: 10–50 flowers per tree, $n = 126$; 2021: 4–38 flowers per tree, $n = 132$). Each treatment was performed on five trees in 2019 and on ten trees in 2021, which were tagged for monitoring until fruit ripening or abortion. The compatibility system index was estimated by dividing the average fruit set after selfing by the average fruit set after cross-pollination, where a value of less than 0.1 is considered as completely self-incompatible, 0.1–0.2 as mostly self-incompatible, 0.2–0.8 as partially self-compatible, 0.8–0.9 as mostly self-compatible, and more than 0.9 as completely self-compatible (modified from Zapata and Arroyo 1978). The pollen limitation index was calculated by dividing the average fruit set after the open-pollination treatment by the average fruit set after the cross-pollination treatment, where a value less than 0.2 is considered as high pollen limitation, 0.2–0.8 as low pollen limitation, and more than 0.8 as absence of pollen limitation (Larson and Barrett 2000).

Pollination effectiveness

To determine the effective pollinators of *C. alata* in 2019 and 2021, two treatments were performed: **crepuscular pollination** – flowers bagged after complete darkness to prevent visits by nocturnal pollinators; and **nocturnal pollination** – flowers bagged before opening and removal of bags after complete darkness to allow only nocturnal visitation (Figure 1E). In 2019, 93 flowers were used for crepuscular pollination and 152 flowers for

nocturnal pollination, while in 2021, each treatment was performed on 122 flowers. All flowers were tagged to monitor their development until fruit formation or abortion.(Núñez-Avellaneda and Rojas-Robles 2008; Carreno-Barrera et al. 2021)

Pollen removal

We estimated pollen removal by crepuscular and nocturnal visitors in 2019 using 40 previously bagged flowers (20 flowers per treatment) that were exposed to floral visitors as in the previous section. In each treatment, the amount of pollen removal from the anthers was quantified categorically and was considered as **high** – high removal of pollen grains from anthers (Figure 1D), **low** – removal of few pollen grains from anthers, and **null** – no removal of pollen grains from anthers (Figure 1F).

Statistical analysis

The Mann-Whitney U test was used to compare stigma closure times (response variable) between pollen and hair contact treatments (explanatory variables). Fisher's exact test was applied to evaluate differences in the proportion of legitimate visits among visitor groups. Generalized linear models (GLM) were used to assess differences among visitor groups in the duration of legitimate visits (adjusted with a negative binomial distribution and a logarithmic link function due to overdispersion).

Generalized linear mixed models (GLMM) were used to compare both the total visitation rate and the legitimate visitation rate between floral visitor groups. The visitor group was included as a fixed effect, while flower identity was included as a random effect. For both response variables, we used raw counts of visits and incorporated observation time (hours) as an offset to account for differences in sampling effort and fitted with a negative binomial distribution (logarithmic link). Similarly, a GLMM with binomial distribution (logit link function) was used to compare fruit set between pollination treatments. The treatment was included as a fixed effect, the tree as a random effect, and fruit set as a response variable.

All GLMs or GLMMs were performed separately for each year (i.e., 2021 and 2022) to consider possible temporal variation and were adjusted using the *glmmTMB* function from the 'glmmTMB' package (Brooks et al. 2017). The significance of the model was evaluated using likelihood ratio tests (ANOVA), comparing each complete model with its corresponding null model (without the predictor of interest). The 'DHARMA' package (Hartig 2016) was used to graphically validate each model. The 'emmeans' package with Tukey's method (Lenth 2023) was used for post hoc comparisons, and the *ggeffects* function from the 'ggeffects' package was used to obtain the means and standard errors of the models.

Finally, Fisher's exact test was applied to evaluate differences in the amount of pollen removal from the anthers after the exclusion of crepuscular or nocturnal visitors. All analyses were performed in R version 4.4.1 (R Core Team 2020), whereas the figures were made with GraphPad Prism v.8.0.1.

Results

Natural fruit set and floral biology

Of the 488 flowers marked on 14 trees, only one produced fruit, representing an extremely low natural fruit set (0.2%). The flowers of *C. alata* exhibited a crepuscular anthesis, which starts to open around 18:00 h, several minutes before sunset (~19:30). At 19:00 h, approximately 50% of the flowers were open, and at 20:30 h, all flowers were completely open (Figure 2A). Anther dehiscence began about an hour after the beginning of flower anthesis. By 19:30 h, more than 50% of the flowers had fully dehisced anthers, and after 20:30 h, more than 90% of the flowers showed complete dehisced anthers (Figure 2B).

Stigma opening started around 16:00 h, several minutes before flower opening. Around 17:00 h, more than 60% of the flowers had open stigmas, and by 18:30 h, 95% were fully open (Figure 2C). All of the examined flowers showed a receptive stigma since the first measurement taken at 16:00 h, remaining receptive until the last observation at 22:00 h. The pollen grains showed 100% viability since the first evaluation performed at 19:30 h.

The flowers exhibited incomplete protogyny, given that the stigma opened and was receptive approximately three hours before anther dehiscence and pollen viability (Figure 2B, 2C). The distance between the stigma and the anthers (herkogamy) averaged 2.65 (SE $\pm$ 1.86 cm), with values ranging from 0.00 (observed in 4% of the flowers) to 6.94 cm (Figure 3A). This indicates that in some flowers the stigma and anthers were close enough to allow self-pollination by autogamy, while in others it seems less likely.

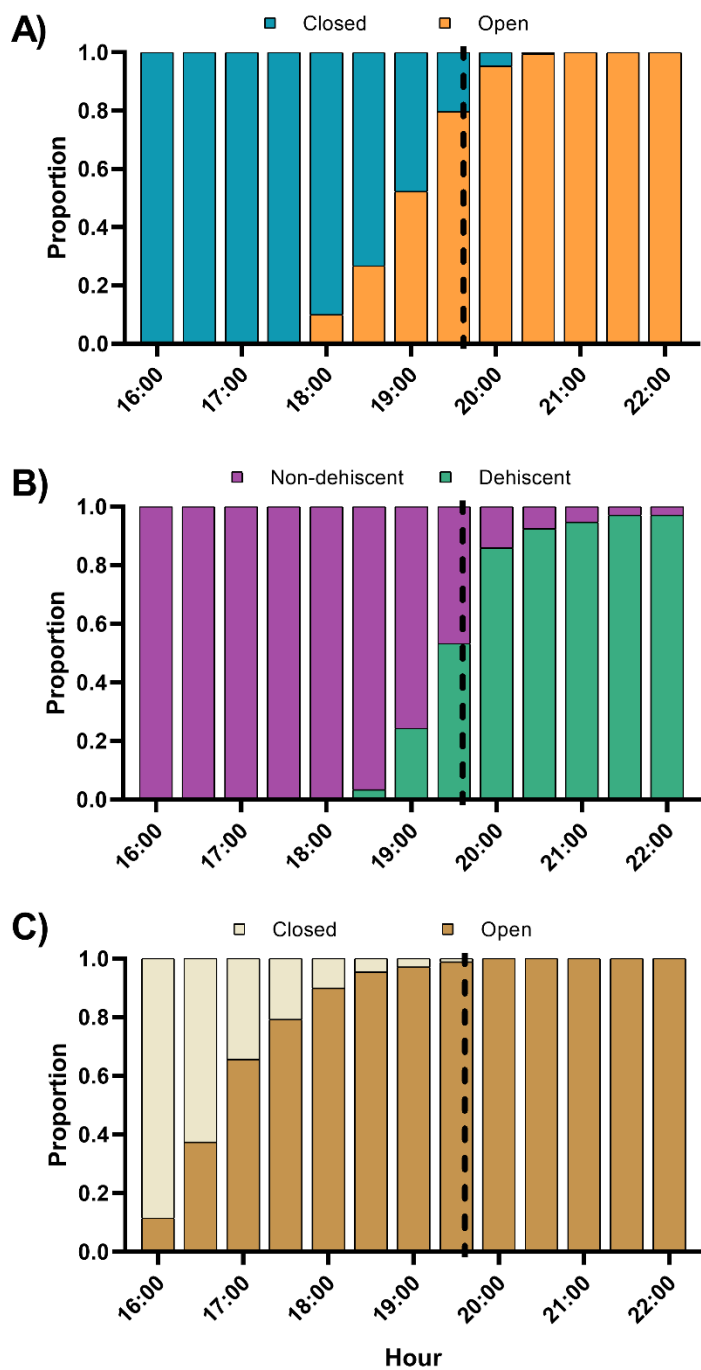


Fig 2 Floral phenology of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Proportion of open and closed flowers at different times. **(B)** Proportion of flowers with dehiscent and non-dehiscent anthers. **(C)** Proportion of flowers with open and closed stigmas. The dotted vertical line indicates the time of complete darkness

The time of stigma closure after contact with pollen (191.2 ± 24.2 s, $n = 20$) or with hair ($n = 20$, 233.0 ± 51.4 s) did not differ significantly ($W = 223.5$, $P = 0.5335$; Figure 3B). Only two of the stigmas touched with hair reopened, 33 and 61 min after closure.

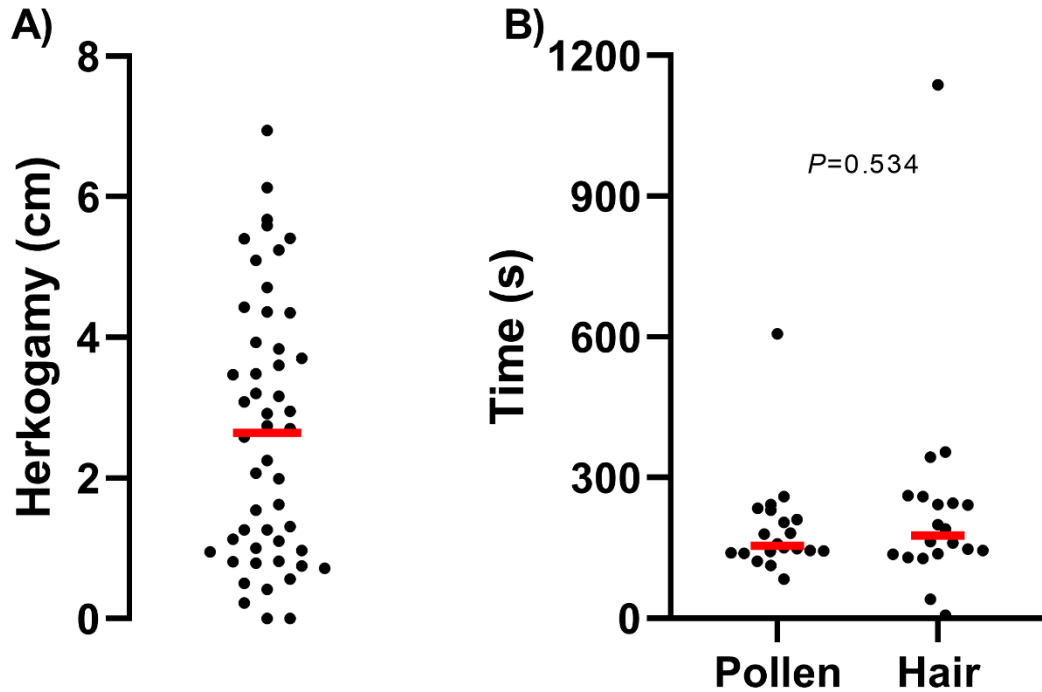


Fig 3 Floral biology of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Spatial separation between anthers and stigma. **(B)** Time of stigma closure after contact with pollen or hair. Each point represents individual data, while the red horizontal line indicates the median. P -value shown according to Mann-Whitney U test

Visitation rate and behavior of floral visitors

A total of 1 069 visits were recorded in 43 flowers from 10 trees over 22 nights: 122 in 2021 (50 h, 16 flowers) and 947 in 2022 (43 h, 27 flowers; Table 1). We identified nine functional groups of floral visitors: four crepuscular, including flies, hummingbirds (Online Resource 1), wasps (Online Resource 2), and honeybees (Online Resource 2), and five nocturnal, which included bats (Online Resource 3), ants, moths (Online Resource 4), lizards (Online Resource 5), and cockroaches (Figure 4). Considering both years, the most frequent visitors were honeybees (65% in 2021 and 75% in 2022), followed by wasps (1% and 10%), bats (21% and 7%), ants (9% and 7%), and moths (2% and 0.3%).

Considering both years, the honeybees were by far the floral visitor that most frequently contacted the anthers and the stigma (80%, 64%, respectively), followed by bats (15%, 32%, respectively; Table 1). In 2021, there were differences in the frequency of contact with anthers ($P < 0.001$; Figure 4A, green bars) and stigma ($P < 0.001$; Figure 4B, green bars) among the different functional groups of floral visitors, with bats making more contact with the anthers and stigma compared to honeybees and ants. In 2022, bats, moths, and lizards contacted the anthers more frequently than honeybees, ants, wasps, and flies ($P < 0.001$; Figure 4A, orange bars), whereas bats contacted the stigma more frequently than the honeybees, wasps, and ants ($P < 0.001$; Figure 4B, orange bars).

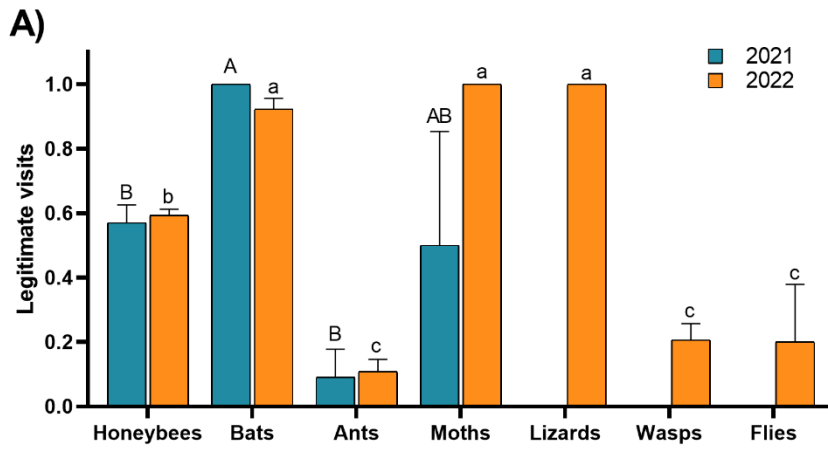
Table 1. Relative frequency of contact (%) with the reproductive parts of *Crescentia alata* for each functional group of floral visitors in 2021 and 2022 in Guerrero, southern Mexico.

Functional group ¹	2021			2022		
	Total	Anthers	Stigma	Total	Anthers	Stigma
Honeybees (74.2%)	79	61.6	50.0	714 ²	83.0	69.2
Wasps (8.8%)	1	0.0	0.0	93 ³	2.6	1.8
Bats (8.5%)	26	35.6	50.0	65	12.0	28.4
Ants (7.1%)	11	1.4	0.0	65	1.4	1.2
Moths (0.5%)	2	1.4	0.0	3	0.6	1.2
Flies (0.5%)	0	--	--	5	0.2	0.0
Lizards (0.2%)	1	0.0	0.0	1	0.2	0.0
Cockroaches (0.2%)	2	0.0	0.0	0	--	--
Hummingbirds (0.1%)	0	--	--	1	0.0	0.0
Total	122			947		

¹ Functional groups of floral visitors are ordered according to their frequency of visits in both years (relative frequency in parentheses). ² The frequency of contact with anthers and stigma, respectively, of 16 and 114 honeybee visits could not be observed because flowers were not completely open. ³ The frequency of contact with anthers and stigma of 30 wasp visits could not be observed because flowers were not completely open.

The duration of visits also varied among floral visitors (2021: $\chi^2 = 86.10$, $df = 6$, $P < 0.001$; 2022: $\chi^2 = 398.84$, $df = 7$, $P < 0.001$). In 2021, bats had shorter visits (0.31 ± 0.134 s) than most floral visitors, while the duration of visits was similar among honeybees, ants, moths, and cockroaches. In 2022, honeybee visits lasted similarly to those of moths, flies, lizards, and hummingbirds, while the visits of bats were the fastest (2022: 0.2 ± 0.063 s; Figure 4C).

Anthers



Stigma

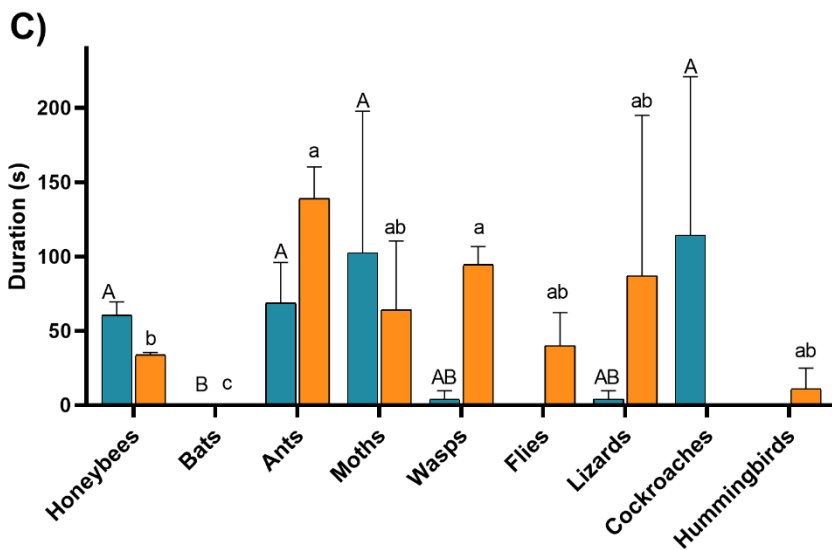
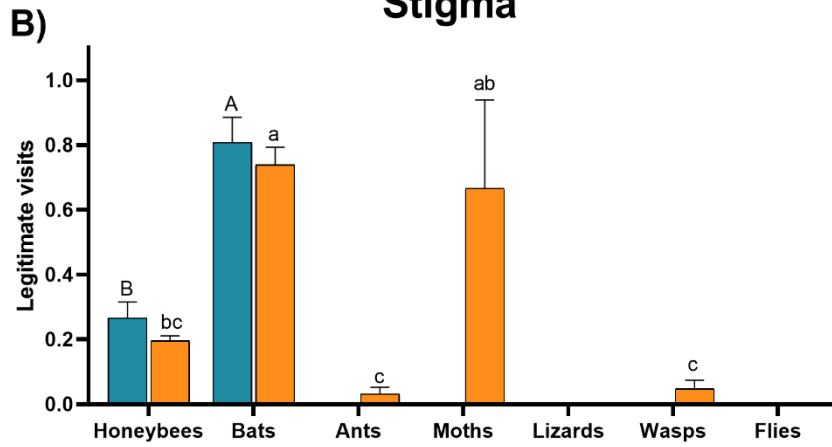


Fig 4 Proportion of legitimate visits that contact the **(A)** anthers, and **(B)** stigma, and **(C)** duration of visits of all floral visitors of *C. alata* during the 2021 and 2022 flowering seasons in Guerrero, southern Mexico. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences among floral visitors in 2021 and 2022, respectively

In both years, the visitation rate (visits/flower*h) differed among floral visitors (2021: $\chi^2 = 15.85$, $df = 4$, $P < 0.001$; 2022: $\chi^2 = 52.41$, $df = 4$, $P < 0.001$). Specifically, in 2021, honeybees, bats, and ants had similar visitation rates, but the visitation rate of honeybees was higher than those of moths and wasps (Figure 5A, green bars). In 2022, honeybees had an extremely higher visitation rate than the rest of floral visitors, while the visitation rate of bats, ants and wasps were similar (Figure 5A, orange bars). Due to the small number of visits by cockroaches, flies, hummingbirds, and lizards, they were not included in these analyses. Considering only legitimate visits, in 2021 honeybees had a higher visitation rate than ants and moths, but similar to bats ($\chi^2 = 13.86$, $df = 1$, $P = 0.003$; Figure 5B, green bars), whereas in 2022, ants, moths, and wasps visited significantly less than honeybees and bats ($\chi^2 = 48.87$, $df = 4$, $P < 0.001$; Figure 5B, orange bars).

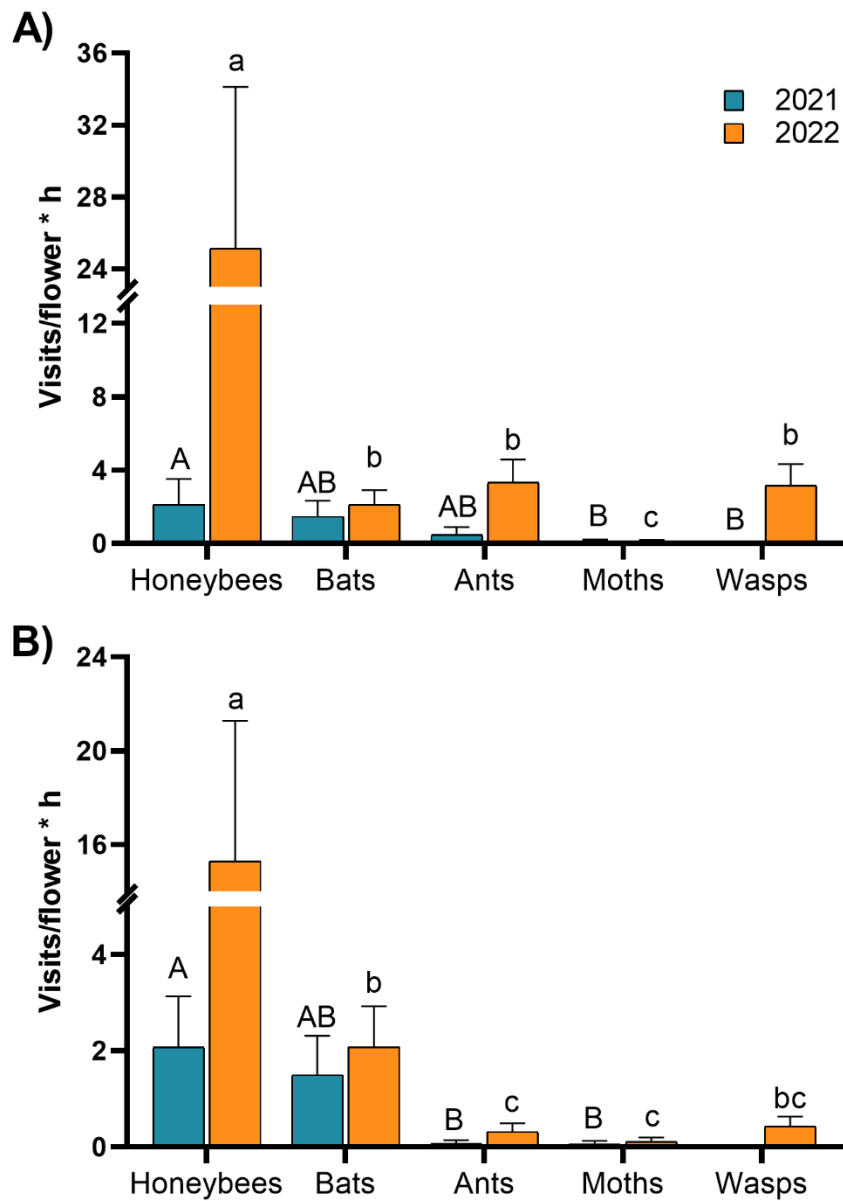


Fig 5 Visitation rate of main (A) floral visitors and (B) legitimate floral visitors of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico, during the flowering seasons of 2021 and 2022. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences in visitation rates among floral visitors in 2021 and 2022, respectively

In 2021, the peak visitation by honeybees was at 18:30, arriving at the flower even when it was closed, while bats showed a peak of visits at 20:30 h, and ants at 21:30 (Figure 6A). In 2022, honeybee visits peak mainly at 17:30 and 18:30 h, wasps at 18:00 h, and bats almost continuously from 19:30 until 20:30 (Figure 6B).

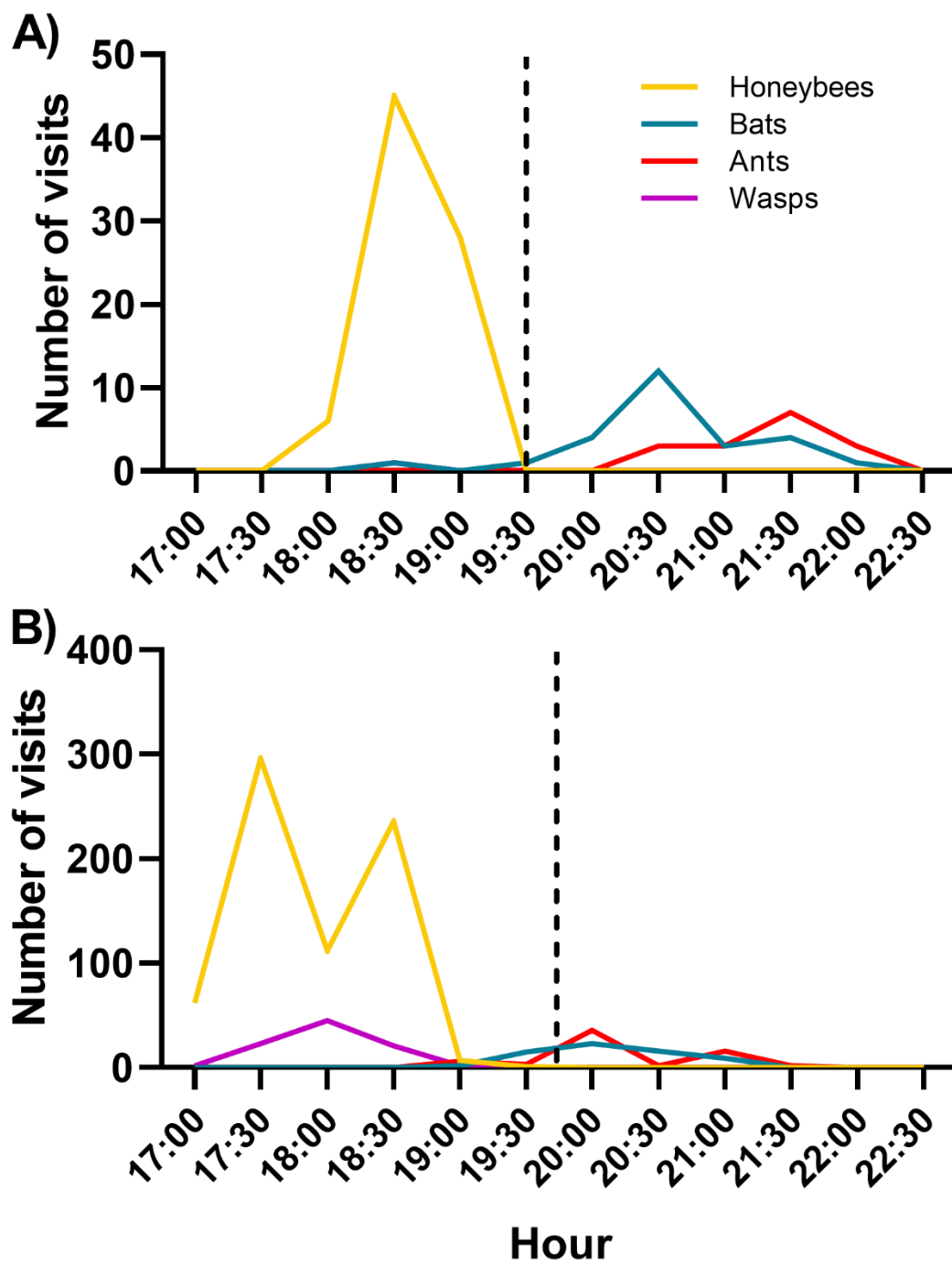


Fig 6 Temporal activity patterns of the main floral visitors of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico, during the flowering seasons of **(A)** 2021 and **(B)** 2022. The number of visits were calculated as the number of visits per functional group per flower every 30 minutes. The dotted vertical line indicates the time of complete darkness

Pollen limitation, self-incompatibility and pollination effectiveness

In both years, the fruit set was significantly higher in the cross-pollination treatment (42% in both years; 2019: $\chi^2 = 87.63$, $df = 2$, $P < 0.001$; 2021: $\chi^2 = 205.67$, $df = 2$, $P < 0.001$) than in the rest of the treatments (Figure 7). Specifically, in 2019, only 2%, 1.3%, and 0.8% of the flowers in the self, nocturnal, and open pollination treatments, respectively, produced fruits. In 2021, only the flowers of the cross-pollination and nocturnal pollination (0.8%) treatments produced fruits.

The self-incompatibility index (ISI) was 0.05 in 2019 and 0.0 in 2021, indicating that *C. alata* has a completely self-incompatible system. Moreover, it was found that *C. alata* had extreme pollen limitation, as the pollen limitation index was 0.02 in 2019 and 0.0 in 2021.

In 2019 and 2021, no fruit was produced under the crepuscular pollination treatment (Figure 7). Even when the fruit set produced by nocturnal pollination was very low in both years (Figure 7), these results indicate that they are the only effective pollinators of *C. alata*, particularly the bats, since they were the most frequent nocturnal legitimate floral visitor (Figure 5B).

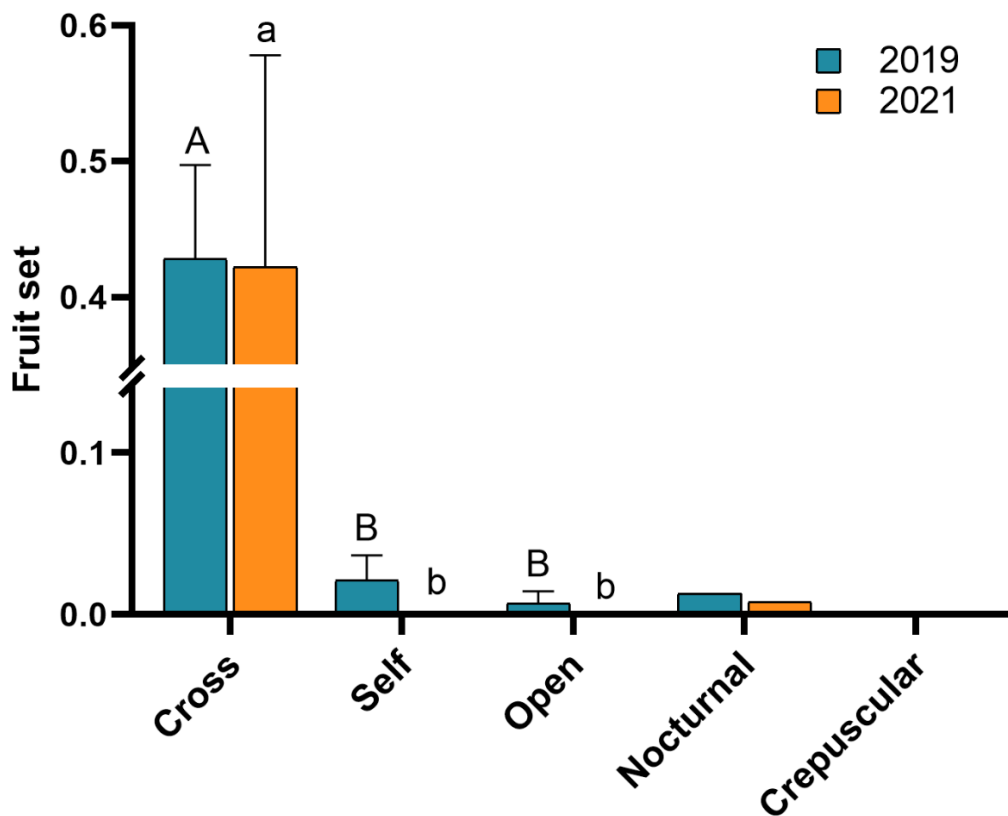


Fig 7 Fruit set of *C. alata* in Guerrero, southern Mexico, under different pollination treatments during the flowering seasons of 2021 and 2022. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences in fruit set among treatments in 2021 and 2022, respectively

Pollen removal

Fisher's exact test showed significant differences in pollen removal between crepuscular and nocturnal floral visitors ($P = 0.007$). Specifically, post hoc analysis indicated that the main difference occurred between the “high” and “low” pollen removal categories ($P = 0.016$). Most flowers exposed only to crepuscular visitors showed high pollen removal (83%), while the flowers with null removal were found in flowers exposed only to nocturnal floral visitors (Figure 8). This indicates that crepuscular floral visitors frequently remove great quantities of pollen from anthers, leaving little pollen available for nocturnal floral visitors, and thereby potentially reducing opportunities for nocturnal pollination.

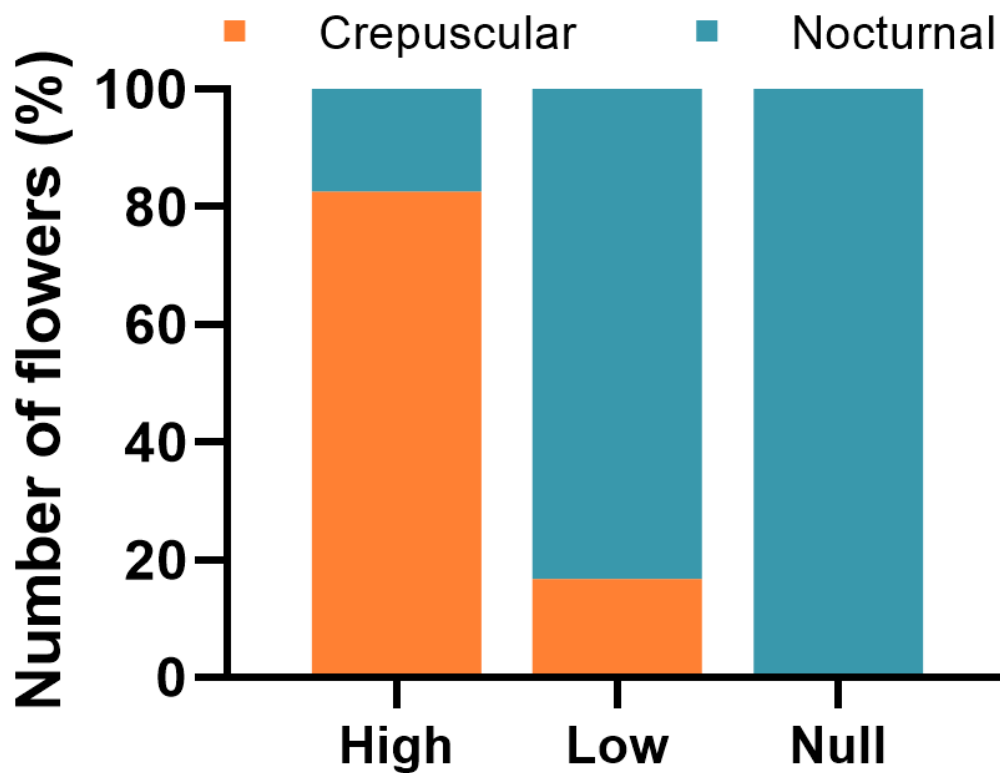


Fig 8 Frequency of pollen removal from anthers by crepuscular and nocturnal floral visitors of *C. alata* in Guerrero, southern Mexico

Discussion

Our results represent the first study that explores simultaneously several potential causes of the low reproductive success of *Crescentia alata*, including the role of an invasive floral visitor of this native tree of great importance to humans and to the ecosystem. Despite the numerous floral visitors of diverse functional groups that interact with the flowers of *C. alata*, we found that it has an extremely low natural fruit set, which could be driven by total pollen limitation due to the high presence of honeybees, which act as ineffective and antagonist floral visitors. As expected, we found that this species presents a complete self-incompatibility system, low herkogamy and dichogamy, a stigma that closes with the contact with hair or pollen, and that bats are the main effective pollinators, but when they arrive, the anthers are usually emptied of pollen by the action of the invasive honeybee.

Plant species generally abort many flowers and immature fruits, causing low production of mature fruits (Stephenson 1981). Even when we did not estimate the total flower and fruit production per tree, we consistently

recorded a very low natural fruit set in all trees. It has been argued that resource limitation is one of the main causes of the low reproductive success of many plants (Stephenson 1981). Our results support this idea since approximately only half of flowers pollinated with cross pollen produce mature fruits. In addition, our results indicate that this species suffers from complete pollen limitation since naturally pollinated flowers did not set fruits in two years. It seems that this limitation is not for a lack of floral visitors (each flower received on average six visits per hour), but rather to a lack of enough effective pollination and to the action of antagonist floral visitors.

Nine functional groups of floral visitors were recorded, including ants, cockroaches, flies, wasps, honeybees, moths, hummingbirds, bats, and lizards. As far as we know, this is the first record of a lizard (the common house gecko, *Hemidactylus frenatus*) as a floral visitor of any plant of the Bignoniaceae family. The cockroaches, along with the flies, lizards, and hummingbirds, were considered illegitimate floral visitors given that they did never touched the stigma of the flower. Only the moths, wasps, ants, honeybees, and bats were considered legitimate floral visitors; nonetheless, given the complete self-incompatibility found in this species, only those visitors that transport exogamous pollen should be considered as effective pollinators.

Our manipulated pollination experiments indicate that only nocturnal floral visitors were capable of performing outcross pollination since no flower exposed to honeybees or other crepuscular floral visitors produced fruit. Among all the nocturnal floral visitors, only the ants, moths, and bats touch the anthers and stigma. Among them, the bats were considered the most effective pollinators given their significantly higher number of legitimate visits per flower compared to moths and ants. It seems unlikely that ants may serve as effective pollinators of *C. alata* in this region given cross-pollination (Torezan-Silingardi and del-Claro 2025 and references therein; but see Delnevo et al. 2020).

It has been proposed that the suite of floral traits is associated with a particular functional group of pollinators, known as floral or pollination syndromes (Fenster et al. 2004; Rosas-Guerrero et al. 2014). This concept establishes that plant species pollinated by the same functional group of pollinators converge in a suite of particular floral traits as a result of similar selective pressures exerted by the same functional group (Fenster et al. 2004). Particularly, bat-pollinated plants (i.e., chiropterophilous plants) typically display huge or large bell-, brush-, dish- or gullet-shaped flowers with nocturnal anthesis, dark red, green or white corollas, a strong fruity, musky or sour odor and a large amount of nectar and pollen (Rosas-Guerrero et al. 2014), which matches with those displayed by *C. alata*, suggesting that bats were the main selective pressure of its floral traits. Our results are also in agreement with the “most effective pollinator principle” proposed by Stebbins (1970), which states that floral traits reflect selection mediated by the most frequent and effective pollinator.

However, the easy access to the huge production of nectar and pollen before and after dusk is possibly the reason why *C. alata* attracts so many more floral visitors of different functional groups than those expected by their pollination syndrome. Among them, the honeybee (*A. mellifera*) and the common house gecko (*H. frenatus*), are introduced species. Nevertheless, only the latter is formally recognized as invasive in Mexico (DOF 2016; CONABIO 2025), even when there is ample evidence that honeybees are widely spread and impact native organisms (e.g., Agüero et al. 2018; Angelella et al. 2021; Scaccabarozi et al. 2024; Medina et al. 2025; Lucas-García et al. 2026). In several bat-pollinated species, honeybees have been recorded as very common floral visitors and considered as non-effective

pollinators (e.g., Fleming et al. 1996; de Araujo et al. 2020; Medina et al. 2025). However, we consider that the honeybees should not be considered only as non-effective floral visitors, since any of the flowers exclusively visited by them did not set fruit, but as an important antagonist or mutualism exploiter (sensu Bronstein 2001) of this bat-plant interaction, based on our following results: **(1)** honeybees far exceed the visitation rate of other floral visitors, removing a lot of pollen from the anthers before the arrival of the effective pollinators; **(2)** the stigma is frequently touched by honeybees (64%), which may impede future effective pollination by bats given that the contact with hair or pollen always triggers stigma closure, which rarely reopens; **(3)** honeybees usually forage within the same tree (personal observation), probably causing clogging and/or closure of the stigma via autogamous or geitonogamous pollen deposition, which in turn will trigger flower or fruit abortion caused by its complete self-incompatible system. Even when several studies, have found that honeybees usually forage within the same individual (e.g., Brittain et al. 2013; Quinet and Jacquemart 2017; Lucas-García et al. 2026), further studies are needed to evaluate the foraging behavior of honeybees within the tree and the quality of pollen deposited on stigmas to define its role as antagonist of this plant.

Even when bats were the fastest floral visitors and contacted frequently the reproductive parts of *C. alata*, their visitation rate was very low and in some trees was totally absent. This could explain the extremely low production of fruits by nocturnal floral visitors and the complete pollen limitation found in this tree in this region. We exclude the possibility that there is a shortage of bats in this region, since recent data about the composition, richness, and abundance of bats in forest patches in this study site (Bautista-Romero 2024; Rosas-Guerrero et al. in press) show that the nectarivorous bats *Glossophaga soricina*, *G. morenoi*, and *G. commissarisi* were very common bat species along the year. However, even when there are a large number of bats in this region, and *G. soricina* may fly up to 500 m (Aguar et al. 2014), surpassing the maximum distance to the closest neighbor recorded in this site (490 m), habitat disturbance could explain the scarcity of bat visits to *C. alata*. Several studies have found that bat species of the genus *Glossophaga* are affected by habitat disturbance and forest fragmentation (Fenton et al. 1992; Estrada et al. 1993; Brosset et al. 1996; Schulze et al. 2000; Quesada et al. 2003, 2004; Gorresen and Willig 2004; García-García et al. 2014). Given that all the trees of *C. alata* analyzed in this study area were restricted to human-modified landscapes, mainly near houses, roads, and agricultural fields, these bats probably avoid visiting these trees due to their high sensitivity to habitat disturbance. Indeed, preliminary results in this study area indicate a negative relationship between the distance to forest patches and the proximity to high roads with the number of visits of nectarivorous bats on *C. alata* (unpublished data).

Crescentia alata showed similar traits to *Merremia platyphylla* (Convolvulaceae), an annual climbing plant found in this study site, which is: a self-incompatible bat-pollinated plant with high pollen limitation and low herkogamy (Medina et al. 2025). The little or null herkogamy found in most individuals of *C. alata* may favor self-pollination, causing high levels of pollen limitation given its self-incompatibility system. Indeed, self-incompatibility is a mechanism supposed to prevent self-pollination (Bertin and Newman 1993; Routley et al. 2004) as a way to avoid the deleterious effects of inbreeding depression (Charlesworth and Charlesworth 1987; Gervais et al. 2014). Based on this, it should be expected that *C. alata* experiences high inbreeding depression, which in combination with the

extreme pollen limitation could explain the presence of incomplete dichogamy. Rosas-Guerrero et al. (2017) proposed that incomplete dichogamy should be favored in plants with presence of pollen limitation and inbreeding depression, as a reproductive assurance mechanism through autogamy (Kalisz et al. 2004; Goodwillie et al. 2005). Thus, the low herkogamy and incomplete dichogamy found in this species may evolve as a result of constant pollen limitation and inbreeding depression through time. Even when incomplete dichogamy and low herkogamy may seem disadvantageous in self-incompatible plants, we found few fruits produced after manual self-pollination. This may evolve as a mechanism of reproductive assurance even in complete self-incompatible species in the face of strong pollination shortage.

The enigmatic stigma closure present in this species can result in a fitness cost if it occurs before the arrival of the effective pollinators (Fetscher and Kohn 1999; Somanathan and Borges 2001; Yang et al. 2004), and as Sritongchuay et al. (2010) highlight, this cost is highest in plants with pollen limitation. Our results indicate that crepuscular floral visitors, particularly the honeybee, usually contacted the stigma and, as mentioned above, either the contact with hair or self-pollen mediated by honeybees (Online Resource 6) will trigger stigma closure, hampering the deposition of compatible pollen by nocturnal effective pollinators since it rarely reopens. In *Tecoma radicans*, a bignoniaceous liana, the lack of reopening of the stigma after being touched has also been described (Newcombe 1922). It is unclear why floral anthesis, stigma receptivity, anther dehiscence, pollen viability, and stigma opening occur before complete darkness when crepuscular visitors arrive, which do not contribute to the reproductive success of this plant and even act as antagonists. Given that this plant is a long-lived tree, their response to contemporary selective pressures may be relatively slow. The honeybee, whose European strain was introduced to North America around 1620 (Buchmann and Nabhan 2012), and the Africanized race in 1957 through Brazil (Goulson 2003), has interacted with this species for a short time from an evolutionary point of view. Comparative studies of the phenology of American and European/African bat-pollinated trees could help to elucidate this supposition.

Even when all our results may help to explain the complete pollen limitation and the extremely low fruit set found in this plant species, it is important to consider that additional factors could be related with their low reproductive success, including low genetic diversity, limited mate availability, and environmental stress. For instance, Scobble and Wilcock (2009) found that the lack of compatible mates caused by low genetic diversity reduced fruit set in *Linnaea borealis* even when there is no pollen limitation. Peet et al. (2002) found that heat and water stress affect pollen development and affect fruit production in tomato plants. Given that the flowering stage of *C. alata* occurs mainly during the rainy season in our study area, we exclude water stress as a main factor influencing the low fruit set. Nevertheless, we consider that the lack of compatible mates may be an important factor, since our data indicate that the average distance to the nearest neighbor is 116 m. Since this plant species propagates by seeds and not through clonal reproduction (Aguirre-Dugua and Casas 2023), the availability of compatible mates may not be so limited. Further studies are clearly needed to evaluate the influence of genetic diversity, compatible mate availability, and environmental stress on the production of fruits and viable seeds.

Our results suggest that the presence of honeybees may jeopardize the maintenance of this important neotropical tree if strategies are not implemented to maximize the conservation of their most effective pollinators and

to minimize the impact of antagonist invasive species. This can be carried out by: **(1)** planting genetically diverse individuals near established conspecifics, **(2)** conserving and restoring native forest patches (mainly tropical dry and subdeciduous forests) to ensure pollination services provided by bats, and **(3)** decreasing the use of managed beehives near populations of this plant species.

CRediT authorship contribution statement

Victor Rosas-Guerrero: Conceptualization, Data curation, Funding acquisition, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Rodrigo Lucas-García:** Data curation, Formal analysis, Writing – review & editing. **Lorena Alemán-Figueroa:** Conceptualization, Supervision, Funding acquisition, Methodology, Writing – review & editing. **Mariana Ceballos-Torres:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing.

Supplementary information

Online Resource 1 Illegitimate visit by the cinnamon hummingbird *Amazilia rutila*, which introduces its beak at the base of the flower

Online Resource 2 Arrival of a wasp and honeybees before dusk, which touch both anthers and stigma. Note the dark coloration of the anthers

Online Resource 3 Bat (genus *Glossophaga*) arrival after dusk in slow motion. Note the contact with anthers and stigma

Online Resource 4 Moth visitation at dusk in search of nectar

Online Resource 5 Visitation by the common house gecko *Hemidactylus frenatus* and an ant at night.

Online Resource 6 Search for pollen in anthers by the exotic honeybee *Apis mellifera*. Before honeybee arrival, anthers display a bright yellow coloration and get dark after pollen removal

Acknowledgments

The authors like to thank Diana García Feliciano, Luis Enrique Hernández Alberdín, Jesús Eduardo Aguilar Rodríguez, Axel Adame Hernández, María de los Ángeles Ramírez López, Gilberto Núñez Landeros, Yatzari Galeana Nava, Gabriela Martínez Ávila, and Adamary Galeana Mellín for their help in fieldwork and data collection. The authors would also like to thank two anonymous reviewers for their valuable comments and suggestions, which greatly improved the manuscript.

Funding

No funding was received for conducting this study.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

- Agüero JI, Rollin O, Torretta JP, et al (2018) Impactos de la abeja melífera sobre plantas y abejas silvestres en hábitats naturales. *Ecosistemas* 27:60–69
- Aguiar L, Bernard E, Machado RB (2014) Habitat use and movements of *Glossophaga soricina* and *Lonchophylla dekeyseri* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Neotropical savannah. *Zoologia* (Curitiba) 31:223–229
- Aguirre-Dugua X, Casas A (2023) *Crescentia alata* Kunth *Crescentia cujete* L. Bignoniaceae. In: Ethnobotany of the Mountain Regions of Mexico. Springer, pp 1–10
- Angelella GM, McCullough CT, O'Rourke ME (2021) Honey bee hives decrease wild bee abundance, species richness, and fruit count on farms regardless of wildflower strips. *Sci Rep* 11:3202
- Arenas FS (2004) Etnobotánica y usos potenciales del cirrián (*Crescentia alata*, HBK) en el Estado de Morelos. *Polibotanica* 18:13–31
- Aziz SA, Clements GR, McConkey KR, et al (2017) Pollination by the locally endangered island flying fox (*Pteropus hypomelanus*) enhances fruit production of the economically important durian (*Durio zibethinus*). *Ecol Evol* 7:8670–8684
- Baqi A, Lim V-C, Yazid H, et al (2022) A review of durian plant-bat pollinator interactions. *J Plant Interact* 17:105–126
- Bass J (2004) Incidental agroforestry in Honduras: The “jícara” tree (“*Crescentia*” spp.) and pasture land use. *Journal of Latin American Geography* 3:67–80
- Bautista-Romero KL (2024) Variación en la dieta de murciélagos frugívoros en un bosque tropical seco del Pacífico Mexicano. Dissertation, Universidad Autónoma de Guerrero
- Bertin RI (1982) Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *Am J Bot* 69:122–134
- Bertin RI, Newman CM (1993) Dichogamy in angiosperms. *The Botanical Review* 59:112–152
- Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, et al (2011) A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol Evol* 26:333–339

- Brittain C, Williams N, Kremen C, Klein A-M (2013) Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280:20122767
- Bronstein JL (2001) The exploitation of mutualisms. *Ecol Lett* 4:277–287
- Brooks ME, Kristensen K, Van Benthem KJ, et al (2017) glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *R J* 9:378–400
- Brosset A, Charles-Dominique P, Cockle A, et al (1996) Bat communities and deforestation in French Guiana. *Can J Zool* 74:1974–1982
- Buchmann SL, Nabhan GP (2012) *The forgotten pollinators*. Island Press
- Butz-Huryn VM (1997) Ecological impacts of introduced honey bees. *Q Rev Biol* 72:275–297
- Cajas-Giron YS, Sinclair FL (2001) Characterization of multistrata silvopastoral systems on seasonally dry pastures in the Caribbean Region of Colombia. *Agroforestry systems* 53:215–225
- Celebrezze T, Paton DC (2004) Do introduced honeybees (*Apis mellifera*, Hymenoptera) provide full pollination service to bird-adapted Australian plants with small flowers? An experimental study of *Brachyloma ericoides* (Epacridaceae). *Austral Ecol* 29:129–136
- Charlesworth D, Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annu Rev Ecol Syst* 18:237–268
- Colautti RI, MacIsaac HJ (2004) A neutral terminology to define ‘invasive’ species. *Divers Distrib* 10:135–141
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) (2025) Enciclopedia: Plataforma digital para la consulta de la biodiversidad mexicana
- Daehler CC (2001) Two ways to be an invader, but one is more suitable for ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 82:101–102
- Dafni A (1992) *Pollination ecology: a practical approach*.
- Dafni A, Pacini E, Nepi M (2005) Pollen and stigma biology. In: *Practical pollination biology*. Enviroquest, pp 83–146
- de Araujo FF, Araújo P de CS, Siqueira E, et al (2020) Nocturnal bees exploit but do not pollinate flowers of a common bat-pollinated tree. *Arthropod Plant Interact* 14:785–797
- Delnevo N, Van Etten EJ, Clemente N, et al (2020) Pollen adaptation to ant pollination: a case study from the Proteaceae. *Ann Bot* 126:377–386
- Dinnétz P (1997) Male sterility, protogyny, and pollen–pistil interference in *Plantago maritima* (Plantaginaceae), a wind-pollinated, self-incompatible perennial. *Am J Bot* 84:1588–1594
- do Carmo RM, Franceschinelli EV, da Silveira FA (2004) Introduced honeybees (*Apis mellifera*) reduce pollination success without affecting the floral resource taken by native pollinators. *Biotropica* 36:371–376

- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2016) Acuerdo por el que se determina la lista de las especies exóticas invasoras para México.
- Dupont YL, Hansen DM, Valido A, Olesen JM (2004) Impact of introduced honey bees on native pollination interactions of the endemic *Echium wildpretii* (Boraginaceae) on Tenerife, Canary Islands. *Biol Conserv* 118:301–311
- Estrada A, Coates-Estrada R, Meritt Jr D (1993) Bat species richness and abundance in tropical rain forest fragments and in agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography* 16:309–318
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, et al (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:375–403
- Fenton MB, Acharya L, Audet D, et al (1992) Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics. *Biotropica* 24:440–446
- Fetscher AE, Kohn JR (1999) Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *Am J Bot* 86:1130–1135
- Fleming TH, Tuttle MD, Horner MA (1996) Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran Desert columnar cacti. *Southwest Nat* 41:257–269
- Frankie GW, Baker HG, Opler PA (1974) Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *J Ecol* 881–919
- García-García JL, Santos-Moreno A, Kraker-Castañeda C (2014) Ecological traits of phyllostomid bats associated with sensitivity to tropical forest fragmentation in Los Chimalapas, Mexico. *Trop Conserv Sci* 7:457–474
- GBIF Secretariat (2023) *Crescentia alata* Kunth. In: <https://doi.org/10.15468/39omei>
- Gentry AH (1974) Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61:728–759
- Gervais C, Awad DA, Roze D, et al (2014) Genetic architecture of inbreeding depression and the maintenance of gametophytic self-incompatibility. *Evolution (N Y)* 68:3317–3324
- Goodwillie C, Kalisz S, Eckert CG (2005) The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:47–79
- Gorresen PM, Willig MR (2004) Landscape responses of bats to habitat fragmentation in Atlantic forest of Paraguay. *J Mammal* 85:688–697
- Goulson D (2003) Effects of introduced bees on native ecosystems. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:1–26
- Gross CL, Mackay D (1998) Honeybees reduce fitness in the pioneer shrub *Melastoma affine* (Melastomataceae). *Biol Conserv* 86:169–178
- Hartig F (2016) DHARMA: residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models. The R Foundation
- Heithaus ER, Fleming TH, Opler PA (1975) Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56:841–854

- Hopkins HC (1984) Floral biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia*. J Ecol 72:1–23
- INEGI (2015) Anuario estadístico y geográfico de Guerrero. Instituto Nacional de Estadística y Geografía Aguascalientes, México
- Inouye DW (1983) The ecology of nectar robbing. In: The Biology of Nectaries (B. Beatley and T. Elias, Editors)
- Inouye DW (1980) The terminology of floral larceny. Ecology 61:1251–1253
- Janzen DH (1991) *Crescentia alata* (Bignoniaceae). In: Janzen D (ed) Historia Natural de Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica, pp 225–227
- Kalisz S, Vogler DW, Hanley KM (2004) Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. Nature 430:884–887
- Kearns CA, Inouye DW (1993) Techniques for pollination biologists.
- Krishna S, Jos EM, Somanathan H (2023) The adaptive function of touch-sensitive stigmas. Plant Ecol 224:83–94
- Larson BMH, Barrett SCH (2000) A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. Biological Journal of the Linnean Society 69:503–520
- Lenth R (2023) emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. R package version 18 5
- Li X, Zou Y, Xiao C, et al (2013) The differential contributions of herkogamy and dichogamy as mechanisms of avoiding self-interference in four self-incompatible *Epimedium* species. J Evol Biol 26:1949–1958
- Lucas-García R, Rosas-Guerrero V, Cuevas E, et al (2026) Honeybees are the most effective pollinators of mango, but only wild pollinators increase the yield of commercial fruits. Agric Ecosyst Environ 396:109965
- Maldonado-López S (2008) Efecto de la perturbación del bosque sobre la actividad de murciélagos polinizadores y la reproducción de *Crescentia alata*. Dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México
- Martínez del Río C, Bullock SH (1990) Parasitismo floral por abejas sociales (Meliponinae: Apidae) en el árbol quiropterófilo *Crescentia alata* (Bignoniaceae). Bot Sci 50:69–76
- Medina E, Rosas-Guerrero V, Lara C, et al (2025) First record of bat-pollination in *Merremia* (Convolvulaceae). Plant Biol 27:592–601. <https://doi.org/10.1111/plb.70016>
- Milet-Pinheiro P, Carvalho AT, Kevan PG, Schlindwein C (2009) Permanent stigma closure in Bignoniaceae: mechanism and implications for fruit set in self-incompatible species. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 204:82–88
- Newcombe FC (1922) Significance of the behavior of sensitive stigmas. Am J Bot 9:99–120
- Paini DR (2004) Impact of the introduced honey bee (*Apis mellifera*)(Hymenoptera: Apidae) on native bees: a review. Austral Ecol 29:399–407

- Palmer M, Travis J, Antonovics J (1989) Temporal mechanisms influencing gender expression and pollen flow within a self-incompatible perennial, *Amianthium muscaetoxicum* (Liliaceae). *Oecologia* 78:231–236
- Paton DC (1993) Honeybees in the Australian environment: does *Apis mellifera* disrupt or benefit the native biota? *Bioscience* 43:95–103
- Peet M, Sato S, Clément C, Pressman E (2002) Heat stress increases sensitivity of pollen, fruit and seed production in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to non-optimal vapor pressure deficits. In: XXVI International Horticultural Congress: Environmental Stress and Horticulture Crops 618. pp 209–215
- Quesada M, Stoner KE, Lobo JA, et al (2004) Effects of forest fragmentation on pollinator activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in bat-pollinated bombacaceous trees. *Biotropica* 36:131–138
- Quesada M, Stoner KE, Rosas-Guerrero V, et al (2003) Effects of habitat disruption on the activity of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: Implications for the reproductive success of the neotropical tree *Ceiba grandiflora*. *Oecologia* 135:400–406
- Quinet M, Jacquemart A-L (2017) Cultivar placement affects pollination efficiency and fruit production in European pear (*Pyrus communis*) orchards. *European Journal of Agronomy* 91:84–92
- R Core Team R (2020) R Core Team R: a language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing
- Rosas-Guerrero V, Aguilar R, Martén-Rodríguez S, et al (2014) A quantitative review of pollination syndromes: Do floral traits predict effective pollinators? *Ecol Lett* 17:388–400. <https://doi.org/10.1111/ele.12224>
- Rosas-Guerrero V, Hernández D (2017) Influence of pollen limitation and inbreeding depression in the maintenance of incomplete dichogamy in *Salvia elegans*. *Ecol Evol* 1:1–6. <https://doi.org/10.1002/ece3.2827>
- Roubik DW (2000) Pollination system stability in tropical America. *Conservation Biology* 14:1235–1237
- Routley MB, Bertin RI, Husband BC (2004) Correlated evolution of dichogamy and self-incompatibility: a phylogenetic perspective. *Int J Plant Sci* 165:983–993
- Sazima M, Sazima I (1978) Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in southeastern Brazil. *Biotropica* 10:100–109
- Scaccabarozzi D, Guzzetti L, Pioltelli E, et al (2024) Evidence of introduced honeybees (*Apis mellifera*) as pollen wasters in orchid pollination. *Sci Rep* 14:14076
- Schaffer WM, Zeh DW, Buchmann SL, et al (1983) Competition for nectar between introduced honey bees and native North American bees and ants. *Ecology* 64:564–577
- Schulze MD, Seavy NE, Whitacre DF (2000) A comparison of the phyllostomid bat assemblages in undisturbed Neotropical forest and in forest fragments of a slash-and-burn farming mosaic in Petén, Guatemala. *Biotropica* 32:174–184

- Scobie AR, Wilcock CC (2009) Limited mate availability decreases reproductive success of fragmented populations of *Linnaea borealis*, a rare, clonal self-incompatible plant. *Ann Bot* 103:835–846
- Shore JS, Barrett SCH (1984) The effect of pollination intensity and incompatible pollen on seed set in *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Canadian Journal of Botany* 62:1298–1303
- Somanathan H, Borges RM (2001) Nocturnal pollination by the carpenter bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. *Biotropica* 33:78–89
- Sperr EB, Caballero-Martínez LA, Medellín RA, Tschapka M (2011) Seasonal changes in species composition, resource use and reproductive patterns within a guild of nectar-feeding bats in a west Mexican dry forest. *J Trop Ecol* 27:133–145
- Sritongchuay T, Bumrung S, Meesawat U, Mazer SJ (2010) Stigma closure and re-opening in *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae): Causes and consequences. *Am J Bot* 97:136–143
- Stebbins GL (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annu Rev Ecol Syst* 1:307–326
- Stephenson AG (1981) Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annu Rev Ecol Syst* 12:253–279
- Stoner KE, O.-Salazar KA, R.-Fernández RC, Quesada M (2003) Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodivers Conserv* 12:357–373
- Thompson PG (2014) Bat pollination, genetic structure and gene flow in *Crescentia alata* trees in Western México. University of California, Los Angeles
- Torezan-Silingardi HM, Del-Claro K (2025) Ant-pollination: Conditional outcomes depending on environmental features and species interactions. *Journal of Applied Entomology* 149:704–710
- Tremlett CJ, Moore M, Chapman MA, et al (2020) Pollination by bats enhances both quality and yield of a major cash crop in Mexico. *Journal of Applied Ecology* 57:450–459
- Uribe-Villavicencio U (2007) Biología floral y polinizadores del cuastecomate (*Crescentia alata*, Kunth, Bignoniaceae) en la costa de Jalisco, México. Dissertation, Universidad de Guadalajara
- Valido A, Olesen JM (2023) Oceanic island bats as flower visitors and pollinators. *J Pollinat Ecol* 35:239–251
- Vázquez-Yanes C, Batis-Muñoz AI, Alcocer-Silva MI, et al (1999) Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J 84:201–204
- Wilson P, Thomson JD (1991) Heterogeneity among floral visitors leads to discordance between removal and deposition of pollen. *Ecology* 72:1503–1507
- Yang S-X, Yang C-F, Zhang T, Wang Q-F (2004) A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Bot Sin* 46:1071–1074
- Zapata TR, Arroyo MTK (1978) Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10:221–230

Figure legends

Fig 1 Flowers and fruits of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Typical lower completely open at night. **(B)** Mature fruit and flowers before dusk. **(C)** Contact of open stigma with anthers from another tree. **(D)** Stigma closed after contact with anthers. The anthers appear dark when they experience high removal of pollen grains by honeybees. **(E)** Bagged flowers before dusk for testing nocturnal pollination. **(F)** Example of anthers without removal of pollen grains

Fig 2 Floral phenology of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Proportion of open and closed flowers at different times. **(B)** Proportion of flowers with dehiscent and non-dehiscent anthers. **(C)** Proportion of flowers with open and closed stigmas. The dotted vertical line indicates the time of complete darkness

Fig 3 Floral biology of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Spatial separation between anthers and stigma. **(B)** Time of stigma closure after contact with pollen or hair. Each point represents individual data, while the red horizontal line indicates the median

Fig 4 Floral visitors of *C. alata* during the 2021 and 2022 flowering seasons in Guerrero, southern Mexico. **(A)** Proportion of legitimate visits and **(B)** duration of visits. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences among floral visitors in 2021 and 2022, respectively

Fig 5 Visitation rate of **(A)** all floral visitors and **(B)** legitimate floral visitors of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico, during the flowering seasons of 2021 and 2022. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences among floral visitors in 2021 and 2022, respectively

Fig 6 Temporal activity patterns of the main floral visitors of *Crescentia alata* in Guerrero, southern Mexico, during the flowering seasons of **(A)** 2021 and **(B)** 2022. The dotted vertical line indicates the time of complete darkness

Fig 7 Fruit set of *C. alata* in Guerrero, southern Mexico, under different pollination treatments (i.e., cross-pollination, self-pollination, and open pollination) during the flowering seasons of 2021 and 2022. Bars represent mean values $\pm$ SE. Different letters indicate significant differences among treatments in 2022

Fig 8 Relative effectiveness index (REI) of the floral visitors of *C. alata* in Guerrero, southern Mexico, during the 2021 and 2022 flowering seasons

Fig 9 Frequency of pollen removal from anthers by crepuscular and nocturnal floral visitors of *C. alata* in Guerrero, southern Mexico