



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

CRISTINA ADRIANE DE SOUZA PONTES

**AJUSTE MECÂNICO ENTRE FLORES E POLINIZADORES EM PLANTAS
QUIROPTERÓFILAS: Análise de uma comunidade de Caatinga**

Recife

2024

CRISTINA ADRIANE DE SOUZA PONTES

**AJUSTE MECÂNICO ENTRE FLORES E POLINIZADORES EM PLANTAS
QUIROPTERÓFILAS: Análise de uma comunidade de Caatinga**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Biologia Vegetal.

Orientadora: Isabel Cristina Sobreira Machado

Coorientador: Arthur Domingos de Melo

Recife

2024

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Pontes, Cristina Adriane de Souza.

Ajuste mecânico entre flores polinizadores em plantas quiropterófilas: análise de uma comunidade de Caatinga. / Cristina Adriane de Souza Pontes. – 2024.

101 f. : il., fig.; tab.

Orientadora :Isabel Cristina Sobreira Machado.
Coorientador: Arthur Domingos de Melo.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referências.

1. Bauhinia. 2. Bloqueio mecânico do estigma. 3. Floresta Tropical Sazonalmente Seca. 4. Partilha de polinizadores. 5. Pólen interespecífico. 6. Polinização por morcegos. I. Machado, Isabel Cristina Sobreira (Orient.). II. Melo, Arthur Domingos de (Coorient.). III. Título.

CRISTINA ADRIANE DE SOUZA PONTES

**AJUSTE MECÂNICO ENTRE FLORES E POLINIZADORES EM PLANTAS QUIROPTERÓFILAS:
Análise de uma comunidade de Caatinga**

Aprovada em 19/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Isabel Cristina Sobreira Machado (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Luís Miguel Primo (Examinador externa)
Facultad de Ciencias Agrárias – Universidad Nacional de Jujuy

Prof. Dra. Maria Fabíola Gomes da Silva de Barros (Examinadora externa)
Instituto Tecnológico Vale – ITV

Prof. Dr. Túlio Freitas Filgueira de Sá (Examinador externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dra. Tarcila Correia de Lima Nadia (Examinadora externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Jarcilene Silva de Almeida (Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esta tese ao meu esposo, Antônio Viana Pontes,
meu maior incentivador. Por ser tão presente na
construção desta pesquisa, me dando todo
suporte que precisei. Também dedico
aos meus filhos, Álef e Archiley
que acompanharam toda a
minha batalha.

AGRADECIMENTOS

Ao autor e consumidor da minha fé, que sempre está comigo em todos os momentos, inclusive, nos mais difíceis, me orientando, guiando, ajudando a superar cada obstáculo e mostrando sempre um novo caminho a seguir. Me provando sempre que o Seu amor é incondicional. E nos momentos mais delicados do percurso acadêmico pude desfrutar desse amor! Toda honra e toda glória desta tese, entrego ao Senhor Jesus Cristo!!! Sem Ele, a realização desse trabalho não seria possível.

Ao meu pai, Marcos Antônio e minha mãe Maria Valdineis (In Memoriam), pelos princípios adquiridos ao longo de uma vida, e principalmente por compreender a minha ausência em decorrência de atividades e compromissos advindos da vida acadêmica.

À minha família (Antônio Pontes, Álef Pontes e Archiley Pontes), que sempre me incentivaram a prosseguir, me apoiando em cada passo.

À Prof. Dra. Isabel Cristina Machado, minha Orientadora. Agradeço por me receber no laboratório Polinizar e pela oportunidade que me concedeu de conhecer um pouco mais da natureza. Agradeço pelos ensinamentos, e pela paciência durante a construção desse trabalho.

Ao meu Coorientador, Arthur Domingos, por fazer aumentar o meu amor pela natureza.

A todos os colegas de laboratório que contribuíram em algum momento para a concretização desta tese: Dayane, Bela, Isadora, Luciana, Sinzinando e Thatiana.

Ao Marcelo, auxiliar de campo do Parque Nacional do Catimbau, por todo suporte em campo para a construção do segundo manuscrito. Também pela companhia, respeito e exemplo de humildade que pude apreciar durante a realização deste trabalho.

À Suprijato Brasil Comércio de Máquinas Acessórios e Abrasivos LTDA (CNPJ 12.643.895/0001-61), por doar as microesferas de vidros necessárias para a realização de experimentos de polinização desenvolvidos em campo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela oportunidade que me deram de desenvolver o presente estudo.

Ao Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva do Departamento de Botânica, Centro de Biociências (UFPE), pela infraestrutura disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de Doutorado que pude usufruir durante toda a minha pesquisa.

Ao PELD Catimbau, pelo apoio logístico durante a pesquisa.

À FACEPE/CAPES, pelo apoio financeiro parcial direcionado a este projeto de pesquisa.

RESUMO

O sucesso na transferência de pólen é essencial para a reprodução das plantas. No entanto, quando diferentes espécies partilham polinizadores em comum, essa interação pode resultar em processos de competição, interferindo no transporte de pólen para os estigmas, e resultando no recebimento de pólen interespecífico. Este trabalho teve como objetivo investigar como ocorre o ajuste morfológico entre flores e morcegos polinizadores em uma área de Caatinga no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, PE. No Capítulo 1, analisamos a morfologia floral de 11 espécies distribuídas em 10 gêneros e seis famílias de angiospermas; verificamos os locais de deposição de pólen no corpo dos morcegos; e medimos o ajuste morfológico das flores aos polinizadores através do Índice de Inacurácia. Encontramos uma predominância para os tipos “pincel” e “pseudo-pincel”, caracterizados por múltiplos estames longos e deposição de pólen difusa no corpo dos polinizadores. Os locais mais utilizados na transferência dos grãos de pólen foram a face, pescoço e tórax. A inacurácia fundamental revelou diferenças na precisão da deposição de pólen nos estigmas entre as espécies, destacando a complexidade das interações planta-polinizador. No Capítulo 2, investigamos a tolerância ao bloqueio mecânico do estigma em duas espécies simpátricas de *Bauhinia*, cujas flores compartilham características morfológicas e morcegos polinizadores; Para isso, conduzimos experimentos de bloqueio mecânico do estigma em campo; analisamos, a deposição de pólen nos estigmas das flores; a média do comprimento das estruturas reprodutivas; e a formação de frutos e sementes através de experimentos de polinização. Os resultados mostraram que o bloqueio mecânico dos estigmas afetou negativamente a reprodução das espécies, com *B. acuruana* demonstrando maior tolerância do que *B. Pentandra*. O fluxo de pólen entre as espécies é assimétrico, no qual, *B. acuruana* recebe mais pólen de *B. pentandra* do que o inverso. As espécies evitam a sobreposição morfológica através da divergência de caracteres e utilizam uma estratégia de deposição de pólen “do traço” para minimizar a deposição de pólen interespecífico. Dessa forma, conseguem reduzir a concorrência e consequentemente, evitar a interferência polínica. Nossos resultados destacam a importância das estratégias de isolamento reprodutivo para as plantas, especialmente quando compartilham polinizadores com espécies vizinhas.

Palavras-chave: *Bauhinia*; bloqueio mecânico do estigma; Floresta Tropical Sazonalmente Seca; partilha de polinizadores; pólen interespecífico; polinização por morcegos.

SUMMARY

Successful pollen transfer is essential for plant reproduction. However, when different species share common pollinators, this interaction can result in competitive processes, interfering with the transport of pollen to the stigmas, and resulting in the receipt of interspecific pollen. This work aimed to investigate how morphological adjustment occurs between flowers and pollinating bats in an area of Caatinga in the Catimbau National Park, Buíque, PE. In Chapter 1, we analyzed the floral morphology of 11 species distributed in 10 genera and six families of angiosperms; we checked the pollen deposition sites on the bats' bodies; and we measure the morphological adjustment of flowers to pollinators through the Inaccuracy Index. We found a predominance of the “brush” and “pseudo-brush” types, characterized by multiple long stamens and diffuse pollen deposition on the bodies of pollinators. The most used sites for transferring pollen grains were the face, neck and chest. The fundamental inaccuracy revealed differences in the accuracy of pollen deposition on stigmas between species, highlighting the complexity of plant-pollinator interactions. In Chapter 2, we investigated tolerance to mechanical blockage of the stigma in two sympatric species of *Bauhinia*, whose flowers share morphological characteristics and pollinating bats; To this end, we conducted mechanical stigma blocking experiments in the field; we analyzed the deposition of pollen on the stigmas of flowers; the average length of reproductive structures; and the formation of fruits and seeds through pollination experiments. The results showed that mechanical blocking of the stigmas negatively affected the reproduction of the species, with *B. acuruana* demonstrating greater tolerance than *B. Pentandra*. The pollen flow between species is asymmetric, in which *B. acuruana* receives more pollen from *B. pentandra* than the other way around. Species avoid morphological overlap through trait divergence and utilize a “dash” pollen deposition strategy to minimize interspecific pollen deposition. In this way, they manage to reduce competition and consequently, avoid pollen interference. Our results highlight the importance of reproductive isolation strategies for plants, especially when they share pollinators with neighboring species.

Keywords: *Bauhinia*; mechanical blockage of the stigma; Seasonally Dry Tropical Forest; pollinator sharing; interspecific pollen; pollination by bats.

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1 – Floral morphology and pollen placement strategies of bat-pollinated flowers: A comparative analysis within populations of chiropterous plants in a Neotropical dry Forest

TABELA 1 – Pollen placement strategies and floral morphological attributes of the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil.....57/58

TABELA 2 – Pollination inaccuracy statistics of a sample from the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil. (Ordered from lowest to highest inaccuracy index).....59

TABELA 3 – Pollen and ovule production of a sample from the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil.....60

MANUSCRITO 2 – Efeito da deposição diferencial de pólen na reprodução de duas espécies quiropterófilas de *Bauhinia* (Fabaceae) em uma floresta tropical sazonalmente seca

TABELA 1 – Efeito da ocorrência, quantidade e tipo de pólen depositados nos estigmas das espécies *Bauhinia acuruana* e *B. pentandra* (Fabaceae). O modelo de zero inflado distingue as análises entre a ocorrência de grãos de pólen (Binomial) e a quantidade de grãos sobre os estigmas (Poisson).....86

TABELA 2 – Resultados dos experimentos de polinização controlada na formação de frutos de sementes.....87

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO 1 – Floral morphology and pollen placement strategies of bat-pollinated flowers: A comparative analysis within populations of chiropterous plants in a Neotropical dry Forest

FIGURA 1 – Illustration of the eight divisions of the bat's body utilized for assessing contact with floral reproductive structures (A). Dot plot depicting the proportion of plants within the chiropterophilous guild whose reproductive floral structures make contact with each specific body part of bats (whiskers denote the 95% confidence interval; dotted line denotes the proportion expected) (B).....61

FIGURA 2 – Contact directions with bodies of pollinating bats generated by different floral morphologies of plants from chiropterophilous guild in PARNA Catimbau, Northeast Brazil. (Upper) Directions of approach (white arrows) of the reproductive structures of the flowers on the bodies of nectar-feeding bats during the floral visit, here exemplified in the *Glossophaga soricina* bat from the Glossophaginae-Phyllostomidae as an example. The labeled plant species include (ordered by the proximity of contact of structures on the bats' body): (A) *Encholirium spectabile*, (B) *Ceiba glaziovii*, (C) *Pilosocereus catimbauensis*, (D) *Pilosocereus pachycladus*, (E) *Xique-xique gounellei*, (F) *Xique-xique tuberculatus*, (G) *Mimosa lewisii*, (H) *Pilosocereus catingicola*, (I) *Ipomoea vespertilia*, (J) *Bauhinia acuruana*, (K) *B. pentandra*, (L) *Helicteres baruensis*, (M) *Hymenaea cangaceira*, (N) *Calliandra aeschynomoides*, (O) *Neocalyptrocalyx longifolium*, (P) *Cynophalla flexuosa*, (Q) *Pseudobombax marginatum*, *Lafoensia glyptocarpa*, (S) *Tarenaya longicarpa*, (T) *Harpochilus neesianus*. (Botton) NMDS analysis (stress = 0.017) comparing different pollen deposition strategies based on floral morphological attributes.....62

FIGURA 3 – Examples of pollen placement strategies observed among chiropterophilous flowers and their pollinating bats. (A) *Tarenaya longicarpa* (Cleomaceae) flowers, with distinct yellow pollen marks are evident diffuse pollen placement on the wings of the *Glossophaga soricina* bat; (B) *Pseudobombax marginatum* (Malvaceae) have big brush type flowers promoting diffuse pollen placement into bats. (C) Flowers as *Bauhinia pentandra* (Fabaceae) and (D) *Ceiba gaziovii* (Malvaceae) deposit pollen through unidirectional strokes, respectively in sternotribic and frontal

directions. (E) Flowers of *Harpochilus neesianus* (Acanthaceae) and (F) *Xiquexique tuberculatus* (Cactaceae) employ a stamp-like mechanism, depositing pollen on the bats' bodies, respectively on the uropatagium and facial regions, (G) *Xique-xique tuberculatus* pollen on the bat's face.....63

FIGURA 4 – Probabilistic density of floral phenotypes of chiropterophilous species that occur in the Catimbau National Park, Buíque/PE. Caatinga dry forest area, Northeast Brazil. (A) Ridgeline plot; (B) Boxplot Coefficient of variation; (C) % contribution to inaccuracy.....64

MANUSCRITO 2 – Efeito da deposição diferencial de pólen na reprodução de duas espécies quiropterófilas de *Bauhinia* (Fabaceae) em uma floresta tropical sazonalmente seca

FIGURA 1 – Deposição de pólen intra e interespecífico em *Bauhinia acuruana* e *B. pentandra*. (A) Proporção de estigmas contendo diferentes tipos de carga polínica. (B) Quantidade de grãos de pólen intra e interespecífico entre as duas espécies. (C) Diagrama do fluxo total de pólen entre as espécies (a espessura das setas indica a quantidade de pólen transferido).....88

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1. Ajuste mecânico entre flores e polinizadores.....	16
2.2. Interferência polínica e suas consequências.....	17
2.3. Formas de evitar a Interferência polínica.....	18
2.3.1. Evitando a sobreposição fenológica: exemplos em flores polinizadas por morcegos.....	18
2.3.2. Evitando a partilha de polinizadores: exemplos em flores polinizadas por morcegos.....	19
2.3.3. Evitando a sobreposição morfológica: exemplos em flores polinizadas por morcegos.....	20
2.4. Quiropterofilia na Caatinga e Níveis de especialização na polinização por morcegos.....	21
2.5. Caracterização e sinalização das flores polinizadas por morcegos.....	24
2.6. Razão pólen-óvulo como preditor de eficiência da polinização.....	25
2.7. Acurácia reprodutiva.....	25
3. MANUSCRIPT 1: FLORAL MORPHOLOGY AND POLLEN PLACEMENT STRATEGIES OF BAT-POLLINATED FLOWERS: A COMPARATIVE ANALYSIS WITHIN POPULATIONS OF CHIROPTEROUS PLANTS IN A NEOTROPICAL DRY FOREST.....	28
ABSTRACT.....	30
3.1. INTRODUCTION.....	31
3.2. MATERIALS AND METHODS	33
3.2.1. Study area	33
3.2.2. Species studied	34
3.2.3. Pollen deposition sites on bat bodies.....	35
3.2.4. Characterization of Floral Morphology.....	36
3.2.5. Morphometry of Operational Distances of Floral Reproductive Structures.....	37
3.2.6. Quantification of Investment in Pollen Production	38
3.2.7. Statistical analysis.....	38

3.3. RESULTS	40
3.3.1. Pollen deposition sites on bat bodies.....	40
3.3.2. Characterization of Floral Morphology.....	40
3.3.3. Morphometry of Operational Distances of Floral Reproductive Structures.....	41
3.3.4. Quantification of Investment in Pollen Production.. ..	42
3.4. DISCUSSION.....	42
3.5. CONCLUSION.....	48
4. MANUSCRITO 2: EFEITO DA DEPOSIÇÃO DIFERENCIAL DE PÓLEN NA REPRODUÇÃO DE DUAS ESPÉCIES QUIROPTERÓFILAS DE <i>BAUHINIA</i> (FABACEAE) EM UMA FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA	65
RESUMO.....	67
4.1. INTRODUÇÃO.....	68
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
4.2.1. Local de estudo	70
4.2.2. Espécies e populações estudadas	71
4.2.3. Mapeamento do fluxo de pólen interespecífico	71
4.2.4. Nível de tolerância de pólen interespecífico	72
4.2.5. Morfometria.....	73
4.2.6. Análises estatísticas.....	73
4.3. RESULTADOS	74
4.3.1. Mapeamento do fluxo de pólen interespecífico	74
4.3.2. Nível de tolerância de pólen interespecífico	74
4.3.3. Morfometria	75
4.4. DISCUSSÃO.....	75
4.5. CONCLUSÕES.....	78
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
6. REFERÊNCIAS.....	91

1. INTRODUÇÃO GERAL

A competição de espécies vegetais por polinizadores é uma interação antagônica capaz de interferir no sucesso reprodutivo das plantas. Esse tipo de interação pode determinar a estrutura da comunidade floral através da exclusão e diferenciação de formas florais (GHAZOUL, 2006; CARUSO, 2000). Enquanto muitas populações de plantas parecem ser limitadas pelos polinizadores (BURD, 1994; WILCOCK; NEILAND, 2002), em muitas comunidades, algumas espécies de plantas se sobrepõem no período de floração e partilham polinizadores (SMITH-RAMIREZ et al., 1998; GROSS et al., 2000). Isso sugere que, onde estas diversas comunidades de plantas persistem, a reprodução das plantas não é limitada pela disponibilidade de polinizadores, e que a disputa por polinizadores pode impor pressões seletivas às flores, uma vez que taxas de visitação dos polinizadores são correlacionadas à oferta de recursos florais (REAL; RATHCKE, 1991). Um exemplo disso é quando o aumento da densidade de diferentes espécies de plantas causa a facilitação da polinização para uma determinada espécie vegetal, por atrair um maior número e/ou diversidade de polinizadores (GHAZOUL, 2006).

Darwin (1859) se dedicou à busca de respostas para amplas questões ecológicas e evolutivas, afirmando que as espécies interagem com base em suas diferenças e semelhanças fenotípicas, e que a variação fenotípica tem uma base na história evolutiva. (RECH; WESTERKAMP, 2014). As espécies necessitam fazer uso de recursos que frequentemente são limitados (GIACOMINI, 2007), com isso, a ocorrência simpátrica de espécies torna-se complexa devido à disputa por alguma parcela de tais recursos (WRIGHT, 2002). Darwin (1859) deixou claro que a competição por recursos poderia causar divergência de caracteres, e que tal divergência seria importante para a origem e coexistência de novas espécies, por manter ou até mesmo aumentar a aptidão floral (PFENNIG; PFENNIG, 2010; BENADI et al., 2013).

Espécies vegetais sincronopátricas podem competir por recurso, dispersão de sementes, por visitas de polinizadores, por espaço geográfico (CAMPBELL; MOTTEN, 1985), e, sobretudo, por espaço no corpo do polinizador. No entanto, as espécies podem sofrer uma importante pressão para a diferenciação floral favorecendo o desenvolvimento de atributos que podem evitar (i) a competição (quando polinizadores têm preferência por determinado fenótipo dentro de uma população), ou (ii) a interferência polínica (quando há um ajuste morfológico mais preciso da flor ao corpo do polinizador), e dessa forma, otimizar a precisão da transferência de pólen para o estigma (GÓMEZ; ZAMORA, 2006).

O sucesso na transferência de pólen depende principalmente da eficiência na doação e recepção de pólen pelo polinizador. Sendo assim, as plantas necessitam de polinizadores eficientes, visto que

estes, levam maior quantidade de pólen aos estigmas. No entanto, em áreas onde há partilha de polinizadores, as plantas podem sofrer com a deposição de pólen interespecífico no estigma, sobretudo, se a espécie competidora produzir muito pólen, e este tocar o corpo do polinizador no mesmo local de contato de estigmas coespecíficos (MITCHEL, 2009). Os morcegos estão entre os polinizadores mais efetivos na promoção do fluxo de pólen, devido à eficiência de seus pelos em transportar grandes cargas de pólen (MUCHHALA; THOMSON, 2010). Simultaneamente, morcegos nectarívoros são altamente generalistas, realizando visitas paralelas a várias espécies simpátricas (QUEIROZ et al., 2020; CORDERO-SCHMIDT et al., 2021), estabelecendo um cenário propício para a competição interespecífica.

Diante disso, algumas espécies desenvolveram estratégias para reduzir o recebimento de pólen interespecífico e escapar da interferência polínica, como o ajuste morfológico da flor ao polinizador (MUCHHALA, 2006; ARMBRUSTER et al., 2004, 2014 a; PONTES et al., 2022). Enquanto as espécies oferecem, ou prometem uma recompensa para atrair os vetores de pólen até as estruturas reprodutivas da flor, onde farão contato com as anteras e o pólen (PYKE, 2016), a eficiência da transferência do pólen é mediada pelo ajuste mecânico do polinizador à morfologia floral (De JAGER; PEAKALL, 2019). Dessa forma, a morfologia do polinizador exerce forte pressão seletiva em estruturas florais promovendo um aumento na aptidão das plantas (ROSAS-GUERRERO et al., 2011; SLETVOLD et al., 2011, 2019).

No primeiro capítulo desta tese investigamos como as diferentes morfologias florais de espécies quiropterófilas podem exibir precisão na remoção e deposição de pólen no corpo dos morcegos, através do ajuste morfológico da flor ao polinizador. Para isso, utilizamos como modelo algumas populações de plantas quiropterófilas de Caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca considerada um hotspot em termos de proporção de espécies polinizadas por morcegos. No segundo capítulo discutimos (1) como as espécies evitam a sobreposição morfológica de pólen no corpo do mesmo polinizador através da divergência de atributos florais e distâncias operacionais das estruturas reprodutivas; e (2) quais os efeitos da interferência polínica promovida pelo fluxo de pólen interespecífico entre duas congêneres de *Bauhinia* (Fabaceae).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Ajuste mecânico entre flores e polinizadores

A morfologia do polinizador pode exercer forte pressão seletiva em estruturas florais via ajuste mecânico, e, apesar de não se esperar que afete a atração do polinizador, alguns trabalhos reportaram que as estruturas florais podem aumentar o número de visitas e consequente deposição de pólen (SLETVOLD et al., 2011, 2019). Além disso, o ajuste mecânico entre o polinizador e a morfologia floral promove a aptidão das plantas, tornando-o um alvo regular de seleção mediada por polinizadores em plantas especializadas (ROSAS-GUERRERO et al., 2011). Dessa forma, o corpo dos polinizadores funciona como uma área de intensa competição, onde o pólen de espécies vegetais sincronopátricas é continuamente adicionado ou removido por seus concorrentes, podendo haver a perda de pólen, se este for colocado em vetores que visitam flores interespecíficas com mais frequência (MINNAAR et al., 2019 a). Sendo assim, as plantas enfrentam um desafio constante no fornecimento de pólen por não poder liberá-los em um meio que envolve transporte difuso. Embora as angiospermas tenham desenvolvido várias adaptações para melhorar a transferência de pólen, apenas uma pequena parte do pólen produzido por uma flor atinge um estigma coespecífico (HARDER; JOHNSON, 2008; HARDER; AIZEN, 2010).

Nesse contexto, a planta precisa produzir o pólen, apresentá-lo, atrair um polinizador potencial, e ainda precisa manipulá-lo fisicamente para depositar o pólen no seu corpo (MINNAAR et al., 2019 a). A precisão na colocação de pólen, depende da extensão em que a morfologia floral e a recompensa oferecida pela planta, manipula e restringe o movimento de um vetor potencial em relação aos órgãos sexuais da flor (DE JAGER; PEAKALL, 2019). Algumas espécies oferecem, ou sinalizam uma recompensa para atrair os vetores de pólen até as estruturas reprodutivas da flor, onde farão contato com as anteras e o pólen (PYKE, 2016). Dessa forma, enquanto a atração do polinizador pelas flores é determinada pela preferência do polinizador, a eficiência da transferência do pólen é mediada pelo ajuste mecânico do polinizador à morfologia floral (DE JAGER; PEAKALL, 2019).

A aptidão floral é o efeito positivo de uma característica da flor na eficácia da polinização de um vetor (ARMBRUSTER et al., 2014). Os componentes da aptidão floral correspondem às funções masculinas (anteras) e femininas (estigmas) (MINNAAR et al., 2019 a). Do ponto de vista da planta, a aptidão de uma flor é maximizada com o aumento da dispersão de pólen em flores coespecíficas, à medida que garante o recebimento de pólen coespecífico suficiente para fertilizar seus óvulos (MITCHELL et al., 2009; MORALES; TRAVESET, 2008). As respostas da aptidão feminina a diversas cargas interespecíficas de pólen podem ser altamente peculiares para cada espécie e contexto,

devido à extrema variabilidade na quantidade de recebimento de pólen interespecífico encontrado dentro e entre as comunidades vegetais (ARCEO-GÓMEZ et al., 2016 a; FANG; HUANG, 2013; JOHNSON; ASHMAN, 2019; TUR et al., 2016). Já a aptidão masculina nas plantas, requer o transporte eficiente de pólen das anteras, onde é produzido, para estigmas co-específicos, onde podem germinar, emitir um tubo polínico, o qual irá alcançar o ovário e fertilizará o óvulo (MINNAAR et al., 2019 a; MOREIRA-HERNÁNDEZ; MUCHHALA, 2019).

2.2. Interferência polínica e suas consequências

A interferência polínica é o efeito negativo que o pólen de uma espécie vegetal pode causar no sucesso reprodutivo de outra espécie vegetal (KYOGOKU, 2015; BORGES, 2017). Quando espécies vegetais simpátricas, apresentam atributos florais semelhantes e partilham os mesmos vetores de pólen, podem se tornar espécies competidoras experimentando uma competição interespecífica por polinizadores, o que diminui potencialmente as aptidões masculina e feminina através da transferência interespecífica de pólen (FLANAGAN et al., 2009; MITCHELL et al., 2009; MINNAAR et al., 2019 a). A competição através da transferência interespecífica de pólen difere das formas tradicionais de competição em que o recurso (neste caso, o polinizador) não precisa ser limitante para os efeitos negativos se apresentarem (MUCHHALA, 2007). Essa situação exemplifica como a competição entre as espécies vegetais ocorre de forma menos evidente do que entre animais, sendo a interferência polínica um dos efeitos negativos da competição interespecífica (MUCHHALA; THOMSON, 2012; MALECORE et al., 2021).

Os movimentos dos polinizadores entre flores de diferentes espécies de plantas podem reduzir a quantidade de pólen que foi exportada pelas flores doadoras, porém, sem causar a interferência polínica, como reportado para *Mimulus ringens* (Phrymaceae) (FLANAGAN et al., 2009). Um estudo recente mostrou que o resultado desse tipo de interação depende dos efeitos mediados pela espécie receptora sobre as doadoras de pólen heteroespecífico (ARCEO-GÓMEZ et al., 2019). Nesse contexto, caso haja um efeito neutro ou mesmo positivo, o pólen heteroespecífico pode não comprometer ou mesmo estimular o processo de fertilização da espécie receptora. No caso de *Sisyrinchium wettsteinii* (Iridaceae - Iridoideae) como espécie receptora, apenas uma pequena porcentagem do pólen de *Oxalis confertifissima* (Oxalidaceae) aderiu aos seus estigmas sugerindo uma ligação fraca entre as duas espécies, o que pode ser essencial para evitar o bloqueio do estigma e seus efeitos prejudiciais (STREHER et al., 2020).

O processo de polinização apresenta alguns mecanismos que envolvem a perda de pólen: i) perda passiva durante o transporte polínico (THOMSON, 2003); ii) deposição de pólen em flores da mesma planta, ocasionando geitonogamia e ausência de fluxo gênico (TRAVIS; KOHN, 2023); ou iii)

quando o pólen é entregue em estruturas florais de espécies competidoras (MORALES; TRAVESET, 2008). O recebimento de pólen heteroespecífico nos estigmas da planta pode reduzir a aptidão feminina, impedindo a ligação específica do pólen ou interferindo na germinação, e no crescimento do tubo polínico (ASHMAN; ARCEO-GÓMEZ, 2013; BRIGGS et al., 2016). Dessa forma, a transferência interespecífica de pólen pode impactar profundamente a reprodução da espécie, diminuindo a aptidão feminina via deposição interespecífica de pólen em estigmas, bem como a aptidão masculina, por extravio de pólen durante visitas às flores interespecíficas (MOREIRA-HERNÁNDEZ; MUCHHALA, 2019).

2.3. Estratégias para evitar a interferência polínica

As angiospermas desenvolveram estratégias que envolvem adaptações para evitar a transferência de pólen interespecífica, como o isolamento pré-polinização, que reduz a deposição interespecífica de pólen, melhorando assim a aptidão masculina e feminina (ARMBRUSTER et al., 1994; MUCHHALA et al., 2014; KAY et al., 2019). A seleção favorece a divergência em vários aspectos do fenótipo floral, e o isolamento pré-polinização é maximizado, reduzindo os custos de adequação resultantes da deposição de pólen interespecífica e extravio de pólen (MINNAAR et al., 2019 a).

2.3.1. Evitando a sobreposição fenológica: exemplos em flores polinizadas por morcegos

A planta responde ao transporte de pólen interespecífico, ao florescer em diferentes momentos do dia (ou da noite) ou do ano, evitando a sobreposição fenológica com as espécies competidoras (BORCHSENIUS et al., 2016; HIPPERSON et al., 2016; ZHANG et al., 2016; PAUDEL et al., 2018). *Dactylanthus taylorii* (Balanophoraceae), por exemplo, é uma espécie endêmica da Nova Zelândia, e a única planta com flores no solo polinizada por um morcego (CZENZE; THURLEY, 2017). A competição por polinizadores influenciou o desenvolvimento de uma adaptação fenológica, fazendo com que a espécie apresente uma fenologia de floração escalonada, para reduzir a concorrência pelo único mamífero nativo polinizador da Nova Zelândia, o morcego-de-cauda-curta, *Mystacina tuberculata* (Mystacinidae) (CUMMINGS et al., 2014).

Alterações na intensidade de recursos florais podem ser uma dimensão de nicho importante que restringe o acesso de espécies a alguns habitats, e podem influenciar os padrões de utilização de recursos das guildas de morcegos nectarívoros. Tschapka (2004) reportou que diferentes estratégias para rastreamento de recursos têm possibilitado a coexistência de até seis espécies de morcegos em florestas tropicais e neotropicais. O autor observou que o néctar floral de algumas espécies difere em suas densidades energéticas atendendo às necessidades dos morcegos *Hylonycteris underwoodi* e *Glossophaga commissarisi*, adaptados a níveis energéticos menores e maiores, respectivamente. Outras

duas espécies de morcegos, diferiam em sua abundância e em suas estratégias temporais de alimentação, e dessa forma, os quatro glossófagos tiveram acesso a todo o espectro de recursos de néctar, e as diferenças observadas no uso de recursos podem ser sintomas de processos comportamentais de diferenciação de nicho.

2.3.2. Evitando a partilha de polinizadores: exemplos em flores polinizadas por morcegos

Espécies vegetais sincronopátricas que compartilham o mesmo polinizador podem experimentar a redução no fitness masculino ou feminino da planta, decorrente da perda de pólen para estigmas de outras espécies e o bloqueio do estigma por pólen heteroespecífico (MUCHHALA et al., 2010, 2012). Diante da necessidade de evitar a perda de pólen para estigmas interespecíficos, a divergência no uso de polinizadores tem sido utilizada como uma estratégia valiosa por algumas espécies quiropterófilas para reduzir a transferência de pólen entre espécies diferentes (MUCHHALA; THOMSON, 2009). O desenvolvimento de adaptações florais para atrair diferentes polinizadores pode ocorrer através de atributos de sinalização (cor, forma, perfumes), para atrair polinizadores específicos, reduzindo assim, os seus movimentos interespecíficos (MINNAAR et al., 2019 a). Além disso, as espécies divergem de suas concorrentes simpátricas por possuírem características que dificultam o acesso às recompensas (MUCHHALA et al., 2010), incentivando a constância e fidelidade floral (TAKAHASHI et al., 2016; TEMELES et al., 2017; WEBER et al., 2018). Diferenças nas características florais podem reforçar as imagens de busca usadas para localizar flores durante o forrageamento, incentivando os polinizadores a permanecerem constantes em uma única espécie (TAKAHASHI et al., 2016; WEBER et al., 2018; MINNAAR et al., 2019 a).

O sucesso na transferência de pólen requer um polinizador eficiente, e a eficiência de um polinizador pode ser determinada pela “quantidade” e pela “qualidade” do serviço de polinização que fornece (MUCHHALA, 2008). A quantidade é medida pelo número de grãos de pólen entregue por visita, e a qualidade é o produto da taxa ou frequência de visitas (ARMBRUSTER et al., 2014). De acordo com Stebbins (1970), espera-se que uma planta se especialize em um polinizador mais eficaz, considerando que uma flor produz uma quantidade limitada de pólen e um polinizador menos eficaz poderia desperdiçar esse pólen, que teria sido mais bem dispersado por um polinizador eficiente (LAU; GALLOWAY, 2004).

Um estudo realizado por Muchhala (2006) reportou que espécies do gênero *Burmeistera* (Campanulaceae) evitam a sobreposição de polinizadores através da variação na morfologia dos lóbulos do cálice, os quais funcionam como um sinal visual e acústico para os morcegos. Ao perceber os sinais, os polinizadores criam uma imagem de pesquisa, que poderá ajudá-los na detecção de flores em meio

à folhagem de fundo (LANGLEY, 1996; ZENTALL, 2005). Dessa forma, as plantas incentivam a fidelidade de polinizadores individuais e contribuem com visitas a outros indivíduos coespecíficos, reduzindo assim, a transferência de pólen heteroespecífico.

2.3.3. Evitando a sobreposição morfológica: exemplos em flores polinizadas por morcegos

Espécies vegetais que ocorrem em simpatria e possuem similaridades morfológicas e filogenéticas (e.g. do mesmo gênero) podem compartilhar polinizadores e sofrer interferência polínica. No entanto, a seleção natural pode favorecer características que reduzem os efeitos negativos do movimento interespecífico de pólen, como foi reportado para as espécies quiropterófilas *Bauhinia holophylla* e *B. longifolia* (Fabaceae) que produzem néctar com diferentes concentrações de solutos e conseguem atrair maior número de visitantes, em momentos distintos (TEIXEIRA, 2010). Neste exemplo, *B. longifolia* produz néctar mais concentrado no início da noite, momento em que os morcegos iniciam suas atividades e necessitam repor rapidamente as calorias gastas durante o jejum diurno. Dessa forma, *B. longifolia* possui período de exclusividade no uso de vetores ao longo da noite, momento propício para dispersar grãos de pólen quando estes são abundantes nas anteras (TEIXEIRA, 2010). Outro exemplo reportou que pequenas diferenças no tamanho das estruturas florais de *B. acuruana* e *B. pentandra* induzem à deposição de pólen em diferentes locais do corpo do morcego polinizador, reduzindo a possibilidade de interferência polínica (ALBUQUERQUE-LIMA et al., 2023 c).

Espécies que apresentam o mesmo período de floração e depositam pólen na mesma região do corpo de um polinizador, poderão perdê-lo toda vez que esse vetor tocar os órgãos reprodutivos das flores de uma espécie competidora (MUCHHALA; POTTS, 2007 b; NATALIS; WESSELINGH, 2012 a). A variação no local da deposição do pólen é uma maneira de aliviar esse custo (ARMBRUSTER; EDWARDS, 1994), visto que diferenças na morfologia floral permitem a partilha de polinizadores, ao mesmo tempo que evitam a mistura polínica e hibridação ao selecionar diferentes porções do corpo do vetor para deposição de pólen/contato com o estigma (HOWELL, 1977; QUEIROZ et al, 2016; ALBUQUERQUE-LIMA et al., 2023 d). Diante da necessidade de escapar da interferência polínica e manter o sucesso e isolamento reprodutivo, algumas espécies polinizadas por morcegos desenvolveram adaptações fenotípicas como forma de evitar a sobreposição morfológica, e a perda de pólen para estigmas interespecíficos (MUCHHALA; POTTS, 2007 b). A colocação diferencial de pólen permite que as espécies depositem grãos em diferentes áreas do corpo de um polinizador, melhorando a aptidão masculina e feminina, ao reduzirem a perda de pólen para estigmas interespecíficos e ao receberem menos pólen interespecífico nos estigmas (MUCHHALA; THOMSON, 2012; STEWART; DUDASH, 2016 a, 2017 a, b; ALBUQUERQUE-LIMA et al., 2023 d).

Alterações das características florais, como mudanças no comprimento, forma, orientação das partes reprodutivas, modificações da morfologia floral que afetam o posicionamento do polinizador e o ajuste mecânico durante as visitas, podem reduzir os efeitos da eficiência do polinizador em termos de remoção e deposição de pólen (ARMBRUSTER; EDWARDS, 1994; MOREÉ et al., 2007; MUCHHALA et al., 2007 a, b; SCHIESTL; SCHLUTER, 2009; HUANG et al., 2013, 2015; KAY et al., 2019). A transferência de pólen interespecífico depende principalmente da eficiência na doação e recepção do pólen, com a qual, as espécies possam competir por espaço no corpo do polinizador, garantir a entrega do recurso, e assim, escapar da interferência polínica. Exemplos bem documentados demonstram que mecanismos competitivos podem selecionar para divergência evolutiva no fenótipo (DAYAN; SIMBERLOFF, 2005), denominado deslocamento de caractere (BROWN; WILSON, 1956), permitindo que espécies simpátricas possam diferir no uso de polinizadores, e consigam reduzir a concorrência.

Estudos comprovam que a morfologia floral desempenha um papel importante na redução da competição por polinizadores (MUCHHALA, 2008; ARMBRUSTER et al., 2014), como o exemplo reportado para a espécie *Ipomoea vespertilia* (Convolvulaceae) que difere de sua congênere simpátrica *I. marcellia* na morfometria e orientação espacial das flores (QUEIROZ et al., 2015). Prolongamento do horário de antese e variação na produção de néctar permitiram o uso de diferentes partes do corpo de polinizadores (morcegos e beija-flores) para a deposição de pólen. Um outro exemplo de divergência evolutiva no fenótipo floral foi observado em espécies simpátricas de *Burmeistera* (Campanulaceae), as quais reduziram a competição pela polinização divergindo no comprimento dos estames a partir da base da corola (MUCHHALA; POTTS, 2007 b). A variação do local de exposição dos estames favoreceu a deposição de pólen em diferentes locais no corpo do polinizador, reduzindo assim, a quantidade de pólen heteroespecífico que chega na superfície estigmática, e consequentemente, o risco de interferência polínica. Logo, a divergência na morfologia floral teve um papel central na especialização de polinizadores e tornou possível a coocorrência e compartilhamento de polinizadores nesses táxons (SANTOS et al., 2019). Um exemplo similar ocorreu na polinização de *B. tenuiflora* que recebe polinização complementar de beija-flores (MUCHHALA, 2003).

2.4. Quiropterofilia na Caatinga e níveis de especialização na polinização por morcegos

A Caatinga é uma floresta sazonalmente seca que apresenta uma das mais altas frequências de plantas quiropterófilas (MACHADO; LOPES, 2004; QUIRINO; MACHADO, 2014; SILVA et al., 2017). Nesta floresta, dados de história natural têm subsidiado a interpretação de diferentes aspectos da interação entre morcegos e flores, como exemplo, a ecologia da polinização, a evolução da quiropterofilia em clados conhecidamente ornitófilos e melitófilos, e a polinização por grupos mistos

de vertebrados (LOCATELLI et al., 1997; QUEIROZ et al., 2016; VOGEL et al., 2005). Além disso, ao longo dos últimos anos, vários sistemas envolvendo diferentes níveis de especialização por morcegos têm sido descritos em gêneros de distintas famílias de plantas (LOCATELLI et al., 1997; MACHADO; VOGEL, 2004; VOGEL et al., 2004, 2005; ROCHA et al., 2007; QUEIROZ et al., 2015, 2016; ALBUQUERQUE-LIMA et al., 2023 a, b, c), comprovando a importância desses polinizadores para muitas famílias de plantas tropicais e subtropicais (TSCHAPKA; DRESSLER, 2002; FLEMING et al., 2009; DOMINGOS-MELO et al., 2023).

Os morcegos são considerados polinizadores altamente eficazes, por transferir maiores quantidades de pólen a grandes distâncias (MUCHHALA; THOMSON, 2010). Atualmente, são reconhecidas nove famílias de Chiroptera no Brasil, dentre as quais, Phyllostomidae, que possui o maior número de representantes, com noventa espécies de Microchiroptera habitando todo o território nacional (REIS et al., 2006; 2007; PERACCHI et al., 2006). Os representantes da família Phyllostomidae (sub-família Glossophaginae) desenvolveram especializações para exploração de néctar que fazem deles importantes polinizadores de muitas famílias de plantas (MUCHHALA, 2006, 2008). Esses morcegos possuem muitas adaptações à nectarivoria, como, focinho alongado, dentição reduzida em tamanho e número de dentes, língua longa e muito extensiva, com a presença de papilas filiformes na região anterior da língua para facilitar o acesso e a retirada do néctar das flores (GIMENEZ et al., 1996). Além destas características, possuem massa corporal e tamanho reduzido (cerca de 14g), o que lhes permite realizar manobras durante o voo, além de realizar vôo pairado, o que lhes possibilita o acesso às flores delicadas e/ou de difícil acesso sem necessidade de pouso. O sentido olfativo desses animais é bem desenvolvido facilitando a localização de flores através do cheiro, mesmo a longas distâncias (TSCHAPKA, DRESSLER, 2002; REIS et al., 2007).

Nas interações planta-polinizador, as flores de um sistema de polinização especializado podem atrair um espectro estreito de visitantes florais e selecionar possíveis polinizadores (OLLERTON et al., 2007). Algumas interações especializadas são resultantes de um processo de coevolução (FEINSINGER, 1983), no qual a evolução de uma espécie influencia mudanças evolutivas em outra espécie, e dessa forma, a evolução de características florais favorece as visitas de polinizadores e dificulta visitas por outros animais que não sejam os agentes de polinização mais eficientes (WILSON; THOMSON, 1996; AIGNER, 2004). Sendo assim, a especialização do sistema de polinização é uma vantagem para a planta, já que promove maior eficiência na polinização e fidelidade dos polinizadores, com consequente aumento no fluxo de pólen e em última instância um aumento na formação de frutos e sementes (JOHNSON; STEINER, 2000). Contudo, a especialização recíproca é rara, uma vez que, a maioria das plantas com sistema de polinização especialista é assimetricamente polinizada por animais generalistas (VÁZQUEZ; AIZEN., 2004). Este parece ser o caso das plantas polinizadas por morcegos,

visto que, alguns glossofagíneos apresentam comportamento generalista (REIS et al., 2007), e parecem integrar sistemas nos quais processos de diferenciação floral, guiados pela interferência polínica podem ser particularmente intensos, podendo envolver a especialização funcional, e simultaneamente, a generalização ecológica (OLLERTON et al., 2007).

A especialização funcional em sistemas de polinização refere-se à diversidade de polinizadores que interagem com a planta, e são semelhantes na morfologia e no comportamento (OLLERTON et al., 2007). Nesse tipo de interação, as espécies vegetais são visitadas por polinizadores de um mesmo nível taxonômico, na qual, os polinizadores podem ser atraídos pela morfologia floral, e/ou por atributos de sinalização que desempenham uma função importante na atração de polinizadores-alvo (HEIDUCK, et al., 2016). Um exemplo bem documentado foi observado nas flores de tubo longo de *Centropogon nigricans* (Campanulaceae), que são polinizadas por *Anoura fistulata* (Phyllostomidae). Esses morcegos desenvolveram uma cavidade no interior da caixa torácica, para retrair sua língua, que chega a ser duas vezes maior que a de outros mamíferos. A projeção lingual de *A. fistulata* possui o comprimento equivalente a 150% da extensão do próprio corpo, sendo análogo ao comprimento da corola tubular (8 a 9 cm) das flores de *C. nigricans* (MUCHHALA et al., 2008, 2009). Nesse caso, a morfologia floral evidencia que grupos funcionais de plantas e polinizadores podem exercer pressões seletivas recíprocas e ainda requisitar pré-adaptações para poder interagir (FENSTER, 2004).

A observação funcional da eficácia dos morcegos como polinizadores com base em suas características morfológicas e comportamentais (MUCHHALA; THOMSON, 2010) raramente sugere casos de especialização ecológica, considerando o número de espécies polinizadoras de morcegos (MUCHHALA, 2006). No entanto, existem casos em que as espécies consideradas polinizadas por morcegos têm sistemas mistos, geralmente envolvendo outros vertebrados ou possivelmente insetos, diurnos e noturnos (SAZIMA et al., 1994; MUCHHALA; THOMSON, 2009; QUEIROZ et al., 2016; ROCHA et al., 2020). A presença de polinizadores diurnos em locais com ausência ou raridade de polinizadores noturnos, pode ser extremamente importante para as espécies vegetais. Os morcegos são fundamentais, por exemplo, para o sucesso reprodutivo de *Pilosocereus catingicola* e *P. pachycladus* (Cactaceae), porém, essas plantas também recebem visitas diurnas de abelhas *Xylocopa grisescens* que contribuem como polinizadores alternativos (ROCHA et al., 2020).

Nas interações generalistas, uma espécie de planta é polinizada por diferentes grupos de animais (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; FENSTER et al., 2004) e seus visitantes florais são menos previsíveis e/ou variam no tempo e no espaço (OLLERTON et al., 2009; RECH et al., 2014). Possíveis consequências negativas da polinização generalizada incluem a perda de pólen do pool reprodutivo e o bloqueio do estigma pelo pólen interespecífico (ARMBRUSTER; MUCHHALA, 2009; MITCHELL

et al., 2009). No entanto, uma vantagem observada nesse tipo de interação é a flexibilidade para suportar flutuações espaço-temporais na abundância de polinizadores (WASER et al., 1996).

Muchhala (2008) avaliou a eficiência da polinização em *Aphelandra acanthus* (Acanthaceae), através dos componentes “quantidade e qualidade”, relacionando-os à sua taxa de visitação; e à quantidade de pólen depositado por visita, respectivamente. A espécie apresenta características florais associadas à quiropterofilia (antese noturna e produção de néctar), ornitofilia (flores amarelas com antese diurna e produção de néctar) e esfingofilia (produção de odor adocicado). No entanto, a evolução favoreceu a polinização por morcegos, por eles depositarem uma carga de pólen, quatro vezes maior que a depositada pelos beija-flores. Já os esfingídeos, não entraram em contato com as estruturas reprodutivas das flores. Os autores observaram ainda que em áreas onde a abundância de morcegos é baixa ou altamente variável de ano para ano, as flores de *A. acanthus* são polinizadas por beija-flores, e, em determinados períodos, são polinizadas por esfingídeos, comprovando que a planta é uma espécie generalista ecológica, o que pode estar contribuindo para a permanência da espécie no ambiente diante de condições adversas.

2.5. Caracterização e sinalização das flores polinizadas por morcegos

As espécies quiropterófilas desenvolveram características florais que permitem uma eficiente sinalização aos morcegos nectarívoros. Dentre esses atributos, estão flores bem expostas na folhagem, capazes de facilitar o acesso; de cores claras, que facilitam sua localização à noite; com emissão de odor forte, similar a frutos em fermentação, sendo eficiente para orientação aos polinizadores a curta e longa distância (FAEGRI; PIJL, 1979; MACHADO et al., 1998, TSCHAPKA; DRESSLER, 2002; WILLMER, 2011). Além desses aspectos, algumas espécies evoluíram para se tornarem ainda mais conspícuas para os morcegos, como *Mucuna holtonii* (Fabaceae) que exibe uma pétala côncava especializada em emitir ecos fortes em várias direções (VON HELVERSEN et al., 1999). Outro exemplo foi reportado para *Marcgravia evenia* (Marcgraviaceae), cuja folha em formato de prato possui propriedades de reflexão acústica eficiente na atração de morcegos polinizadores (SIMON et al., 2011). Já a Cactaceae *Espostoa frutescens*, possui uma adaptação acústica floral que funciona como uma estrutura de absorção de som, que favorece a orientação espacial ao morcego. Trata-se de uma região do cefálio que contém tricomas tectores que atenuam o eco de fundo, aumentando o contraste acústico com o alvo (SIMON et al., 2023). Devido à memória espacial bem desenvolvida, os morcegos costumam associar a imagem de pesquisa acústica a uma fonte de alimento (GONZALEZ-TERRAZAS et al., 2016) e, assim, economizam tempo no forrageio.

Morcegos necessitam de um consumo constante de néctar para atender às suas altas demandas energéticas, precisando visitar ou revisitar centenas de flores por noite para cobrir seu gasto energético

noturno, aumentando a eficiência do forrageamento (WINTER; VON HELVERSEN, 2005; SIMON et al., 2023). Plantas atendem essa demanda produzindo copiosas quantidades de néctar com baixa concentração de açúcares e com hexose dominante. Consequentemente, elas se beneficiam de uma taxa de polinização cruzada mais alta, uma vez que, morcegos são polinizadores eficientes, carregam muito pólen em seus pelos, e atingem uma enorme área de abrangência, podendo polinizar plantas coespecíficas que crescem a grandes distâncias entre si, o que garante um excelente fluxo gênico (VON HELVERSEN; WINTER, 2003).

2.6. Razão pólen-óvulo como preditor de eficiência da polinização

As relações pólen-óvulo (P/O) são bons indicadores dos sistemas reprodutivos das plantas, uma vez que refletem a probabilidade de grãos de pólen atingirem os estigmas para efetuar a fertilização dos óvulos disponíveis (CRUDEN, 1977, 2000; ARENDSE et al., 2021). Através da P/O pode-se inferir quantos grãos de pólen são necessários para fecundar um óvulo em cada espécie vegetal (CRUDEN, 1977). De acordo com Cruden (1979, 1981), a eficiência da polinização é demonstrada nos baixos valores de razão P/O, e essa característica está associada à eficiência no transporte de pólen (CRUDEN, 2000). Nesse sentido, é esperado que flores que apresentam um local específico de deposição de pólen no polinizador, exibam menores proporções POs, e o contrário, ocorra para as espécies cujas flores depositam o pólen de forma difusa, ou seja, em vários locais do corpo do polinizador.

De acordo com Cruden e Jensen (1979), alguns fatores podem contribuir para uma polinização eficiente, como a presença de fios de viscina nos grãos de pólen, que podem facilitar o movimento de grande quantidade de pólen ao mesmo tempo. Nesse contexto, modificações na morfologia do pólen associadas à polinização podem ser também consideradas, como as tétrades e políades observadas em algumas espécies quiropterófilas, uma vez que, a deposição de um pequeno aglomerado de pólen favorece a remoção e transferência de muitos grãos de uma única vez. Segundo os autores, o tamanho do estigma também pode favorecer a redução na razão P/O, já que, grandes estigmas, podem remover alta quantidade de pólen por contato. No entanto, em plantas polinizadas por morcegos a eficiência da polinização parece funcionar de maneira diferente, visto que a área de superfície estigmática é consideravelmente menor em relação a área de pólen no polinizador, fazendo com que o estigma dessas espécies remova poucos grãos de pólen no contato com o polinizador (MUCHHALA; THOMSON, 2010).

2.7. Acurácia Adaptativa

A acurácia adaptativa é uma métrica proposta por Armbruster et al (2004, 2006, 2009, 2014 a), com o propósito de capturar propriedades funcionais e ecológicas de organismos, capaz de analisar o

significado adaptativo da morfologia floral e sua função na polinização. Além de quantificar a precisão da polinização, avalia as possíveis demandas de conflitos e conexões existentes entre a especialização e a diversidade floral existentes nas angiospermas (ARMBRUSTER et al., 2009). Nas flores que têm uma orientação característica, a acurácia é determinada pela posição de deposição e remoção de pólen no corpo dos polinizadores. Um exemplo disso, são as flores zigomorfas, nas quais, a posição das anteras, em relação ao local de abordagem do polinizador ou entrada na flor, determina o local onde o pólen é colocado. Da mesma forma, a posição do estigma determina onde essa estrutura entra em contato com o polinizador e coleta o pólen (ARMBRUSTER et al., 2004, 2009 a, b, 2020). A aplicação desta métrica tem sido empregada, inclusive, para analisar a reciprocidade de morfos em plantas que apresentam hercogamia (SIMON-PORCAR et al., 2015), possibilitando estimar o grau de aptidão reprodutiva dessas espécies.

Baseados na acurácia adaptativa, Armbruster et al (2009 a, b) propuseram a inacurácia adaptativa como uma nova medida de reciprocidade. Essa métrica estima a ausência de precisão em um determinado sistema, considerando as médias e variâncias de um fenótipo de interesse em uma população, permitindo verificar o quanto esse fenótipo varia a partir de um ótimo esperado, ou seja, o quanto um fenótipo se afasta de um ponto ótimo previsto para uma população (ARMBRUSTER et al. 2004, 2009 a, b; HANSEN et al., 2006; PÉLABON et al., 2012; OPEDAL et al., 2016; PALACIOS et al., 2019). O índice de reciprocidade tenta caracterizar numericamente o grau de correspondência dos órgãos sexuais compatíveis para a polinização, e é verificado a partir da posição das anteras e do estigma em relação ao local de referência que controla a posição do polinizador. Nesse sentido, a acurácia adaptativa (i) pode ser calculada como: $i = (M_f - M_o)^2 + V_o + V_f$, onde M_f é a média do fenótipo em questão, M_o é a média do ótimo determinado, V_o é a variância desse ótimo e V_f é a variância do fenótipo. Para fins comparativos, é importante também considerar os coeficientes de variação (desvio padrão/média) tanto do fenótipo de interesse, quanto do ótimo e escalonar os valores de inacurácia obtidos dividindo-os pelo quadrado da média do fenótipo analisado (i/M_f^2) (ARMBRUSTER et al., 2009 a, b). Uma possível consequência negativa de baixa reciprocidade para a polinização pode incluir a perda de pólen direcionado para a reprodução da planta e bloqueio do estigma pela deposição de pólen heteroespecífico, podendo ocasionar a interferência polínica. Essas medidas podem ser avaliadas em dimensões lineares das flores, relacionando o comprimento do pistilo ao comprimento do estame, ou pode ainda, ser estendida para o espaço bidimensional (2D) ou tridimensional (3D), utilizando distâncias euclidianas (ARMBRUSTER et al., 2014 a, b).

Pontes et al. (2022) analisaram a acurácia fundamental (medidas das distâncias operacionais realizadas na própria flor) e acurácia realizada (medidas realizadas na interação planta-polinizador) das flores de *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) através do índice de inacurácia proposto por Armbruster et

al. (2009). Os autores descreveram o ajuste mecânico das abelhas às flores de *J. rugosa*, analisaram o comportamento das abelhas nas flores, assim como, sua morfologia e sua eficiência no transporte de pólen. Eles observaram que a baixa inacurácia das flores permite o ajuste mecânico para abelhas de médio porte, e que o alto grau de precisão fundamental nas flores de *J. rugosa* fornece um mecanismo recíproco preciso para deposição e remoção de pólen. E a principal característica floral que determina a transferência de pólen intraespecífico é a posição das estruturas reprodutivas nas flores.

Braga et al. (2022) investigaram a enantiofilia em *Senna rugosa* (Fabaceae - Caesalpinioideae), avaliando a variação na posição dos órgãos sexuais e o nível de hercogamia e através do índice de inacurácia descreveram o nível de reciprocidade entre estigmas e anteras de diferentes tipos florais e dentro do mesmo tipo floral. Trevisan et al. (2021) analisaram se diferentes componentes de reciprocidade de flores distílicas, como gênero, variação da razão morfológica e comprimento do tubo da corola influenciam as imprecisões nos órgãos sexuais em diferentes populações. Através dos índices de inacurácia, foi possível comparar várias populações de plantas e conferir a inacurácia de suas características florais (TREVISAN et al., 2021). Brys et al. (2019) mediram o nível de reciprocidade dos órgãos sexuais da erva distílica *Primula veris* (Primulaceae) em duas populações diferentes. Os autores observaram variações na inacurácia individual do posicionamento dos estigmas nas duas populações, e puderam constatar que a inacurácia total no posicionamento recíproco dos órgãos sexuais foi cerca de quatro vezes maior na população florestal do que na campestre.

A partir do exposto, este estudo visa contribuir para a compreensão das complexas interações entre plantas quiropterófilas e morcegos polinizadores na Caatinga, enfatizando a diversidade de estratégias de ajuste mecânico e a necessidade de considerar a eficiência da polinização das diferentes morfologias florais. A acurácia fundamental é apropriada para entender a evolução das flores, frente à adaptação e a relação da morfologia floral com o desempenho da polinização, além de ser essencial para entendermos os trabalhos que envolvem a acurácia realizada na interação planta-polinizador (ARMBRUSTER, 2014 b; PALACIOS et al. 2019).

3. MANUSCRIPT 1: FLORAL MORPHOLOGY AND POLLEN PLACEMENT STRATEGIES OF BAT-POLLINATED FLOWERS: A COMPARATIVE ANALYSIS WITHIN POPULATIONS OF CHIROPTEROUS PLANTS IN A NEOTROPICAL DRY FOREST

**Manuscrito submetido à
*Revista Chilena de História Natural***

MANUSCRIPT 1: FLORAL MORPHOLOGY AND POLLEN PLACEMENT STRATEGIES OF BAT-POLLINATED FLOWERS: A COMPARATIVE ANALYSIS WITHIN POPULATIONS OF CHIROPTEROUS PLANTS IN A NEOTROPICAL DRY FOREST

Cristina Adriane de Souza Pontes¹, Arthur Domingos-Melo^{2*} e Isabel Cristina Machado¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil

²Laboratório de Biologia Floral e Ecologia da Polinização, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe - Campus Prof. Alberto Carvalho, Itabaiana – SE, 49506-036, Brasil.

*Correspondence: Arthur.dom@academico.ufs.br

ABSTRACT: Synchronopatric plant species, coexisting and flowering simultaneously, often engage in intense competition for pollen deposition on shared pollinators. This study focuses on the intricate dynamics of chiropterophilous flowers within the Neotropical bat pollination system, specifically investigating the mechanical adjustment of reproductive structures for bat pollinators at the community level. We use several populations of plant species pollinated by bats from the Caatinga, the largest dry forest in the Neotropical region, our research integrates several key components. Initially, we identified specific contact sites for floral reproductive structures on the bat body, exploring different pollen placement strategies. Subsequent efforts involved characterizing floral traits within populations and examining their associations with different pollen placement strategies. The contact precision of floral reproductive structures was estimated and the results were integrated by associating pollen placement strategies and precision with investment in pollen production. Results: We found that certain parts of the bats' body, especially the face and neck, were more frequently contacted by reproductive structures. The three categories of pollen placement strategies identified were evenly distributed among plant species, each linked to a specific floral trait. Remarkably, the absence of oriented herkogamy prevailed in 70% of species. Morphometric analyzes revealed significant variations in operational distances between species, emphasizing exceptional variability in certain outliers. Although pollen transfer accuracy was influenced by key factors, surprisingly, investment in pollen production did not differ between plants with different pollen placement strategies. Furthermore, it showed no correlation with fundamental accuracy. Subsequent exploration investigates the intricate associations between distinct floral traits and various pollen placement strategies, shaping the complex pollen landscape on bat bodies. This research provides valuable information about the community dynamics of chiropterophilous flowers in the Caatinga Dry Forest, emphasizing the role of different pollen deposition strategies in facilitating the coexistence of multiple plant species within the Chiropterophila Guild.

Keywords: male reproductive fitness; man-man competition; pollen; fundamental accuracy; floral features.

3.1. INTRODUCTION

Mechanical adjustment is the close relationship between floral morphology and the pollinator's body, in which floral characteristics associated with pollinator visitation behavior can promote pollination success. Synchronopatric plant species (i.e., those that occur in the same area and flower simultaneously) can share the same pollinators, subjecting them to intense competition for pollen deposition on their bodies (Minnaar et al., 2019a). This competition is characterized by a complex dynamic in which pollen from these species is continually added and removed by members of the same species and other species (Streher et al., 2020). This process can lead to pollen loss if it is frequently transferred to animals that sequentially visit flowers of different species (Minnaar et al., 2019a). Given this scenario, several strategies have evolved in flowers to avoid heterospecific pollen deposition and at the same time enhance the deposition of conspecific pollen, among which the mechanical adjustment between the flower and the pollinator stands out (Armbruster et al., 2009ab, 2014ab; Palacios et al., 2019).

How pollen transfer occurs depends on the extent to which floral morphology and the reward offered by the plant manipulate and direct the movement of a potential vector in relation to the flower's sexual organs (De Jager and Peakall 2019). The combination of these factors can generate a broad gradient of conditions, allowing for different strategies (Webb and Lloyd 1986; Armbruster et al. 2014a). At one extreme are flowers that spread pollen diffusely over pollinators, covering a substantial area of the body of these animals without a precise location for pollen transfer. This process typically occurs in more generalist flowers and its impact on the effectiveness of pollen transfer remains uncertain (Amorim et al. 2013; Avila et al. 2015). At the other extreme, we find flowers with very specific pollen deposition sites on the bodies of pollinators, a process that generally occurs in flowers with significant phenotypic specialization and is commonly associated with greater efficiency in pollen transfer (Muchhala and Thomson 2009).

A noteworthy example of research into pollen competition for space on pollinators' bodies at the community level occurs in bat-pollinated flowers of the Neotropics, driven by three main reasons. First, several interaction network studies have consistently demonstrated that bats that specialize in nectar feeding in the Neotropics (i.e., the subfamilies Glossophaginae and Lonchophyllinae – Phyllostomidae) exhibit high levels of generality in the plants they visit (Queiroz et al. 2020; Cordero-Schmidt et al. 2021; Furthermore, chiropterophilous species exhibit high morphological diversity and phenotypic characteristics expressed through floral morphophysiological characteristics (Ollerton et al. 2007), such as pollen deposition in different locations on the pollinator's body (Muchhala and Potts 2007b; Moreira-Hernández and Muchhala 2019), thus allowing morphological overlap to be avoided.

Finally, bats are recognized for their high efficiency in transporting pollen through their fur, establishing a direct link between pollen export and import, thus driving the selection of large quantities of pollen in flowers (Muchhala and Thomson 2009). This is further intensified by a higher number of anthers per flower or by a higher proportion of male flowers compared to bisexual flowers (Von Helversen 1993), as well as larger pollen grains when compared to diurnal flowers (Jürgens et al. 2012).

In relation to this last aspect regarding pollen investment, it was suggested that the high pollen production observed in chiropterophilous species may be associated with the pollinator's body surface area, given that bats have an extensive body surface, consequently favoring greater pollen deposition (Spira 1980; Muchhala and Thomson 2010). For a long time, the P/O ratio was proposed to reflect the probability of pollen grains reaching the stigmas for fertilization of available ovules (Cruden 1977, 2000; Arendse et al. 2021), eventually being used as a predictor of systems reproductive systems (Cruden 1977). However, some studies have shown that dependence on pollinators and pollination efficiency have a much greater influence on the evolution of the total number of pollen grains per flower than on the number of ovules. This requires caution when making inferences from the P/O ratio (Harder and Johnson 2023; Johnson and Harder 2023). Thus, approaches that measure pollen production between different species at the community level can allow an understanding of other important factors in determining this attribute (Nepal et al. 2023).

Studies involving pairs of congeneric model species have revealed functional aspects of how bat-mediated interspecific pollen flow occurs in neotropical plant species (Muchhala and Thomson 2009). Or even spot sampling of pollen deposited on the bodies of nectar-feeding bats captured by nets (Howell 1977). However, the processes that operate at the community level, allowing the coexistence of these diverse flower-pollinator mechanical tuning strategies, are still poorly understood and limited to a few excellent studies conducted in the Paleotropics with Pteropodidae bats (Stewart and Dudash 2015, 2016ab).

In this work, we intend to investigate how the mechanical adjustment of the reproductive structures of chiropterophilous flowers to pollinating bats (and their consequent transfer of pollen) occurs at the community level. For this, we used some plant species from the Caatinga, which is the largest dry forest in the Neotropics and a hotspot for the occurrence of this pollination system (Domingos-Melo et al. 2023). Our approach encompassed several key components. First, we focused on identifying contact sites for floral reproductive structures on the bat body, exploring diverse pollen placement strategies. Subsequently, we delve deeper into the characterization of plants' floral traits, evaluating their prevalence within populations and examining their connections with different pollen placement strategies employed.

Furthermore, we estimated the precision with which contact of floral reproductive structures could occur. Finally, we integrate our findings by associating pollen placement strategies and the precision of floral reproductive structures with investment in pollen production. For the above objectives, we integrated naturalistic observations and records of bat visits in the field, together with morphological analyzes of floral attributes. For the second objective, the fundamental inaccuracy index proposed by Armbruster (2009b) was used. This metric integrates different measures of phenotypic variation, considering the functional properties of flowers and analyzes how close a population is to its adaptive optimum, quantifying pollination precision (Armbruster et al. 2004, 2006, 2009ab, 2014b – see Materials and Methods for a more in-depth explanation). Finally, we quantified the pollen and ovule production of each species using classical protocols (Cruden 2000). Our expectations were that different species within the chiropterophilous plant populations studied would exhibit diverse mechanical adjustment strategies to pollinating bats, allowing them to exploit different parts of the body surface as pollen transfer sites. Furthermore, we predicted that this gradient of strategies would be related to fundamental inaccuracy, such that the more accurate flowers would present more restrictive morphology. We also expected that less precise flowers would invest in greater amounts of pollen to ensure their reproductive efficiency.

3.2. MATERIALS AND METHODS

3.2.1. Study area

We chose the Caatinga, considered the most diverse among tropical dry forests (Silva et al. 2017), due to its high frequency of chiropterophilous species, making it one of the most notable areas for such species worldwide (Machado and Lopes 2004 ; Quirino and Machado 2014; Domingos-Melo et al. Dry forests represent approximately 43% of all tropical forests and are home to high levels of biodiversity (Silva et al. 2020), housing 31 endemic plant genera (Queiroz et al. 2017). In contrast to other forests where chiropterophilous species commonly occur at relatively low densities, the abundance of chiropterophilous species in the Caatinga facilitates the measurement of ecological processes at the population and community levels (Machado et al. 2023).

The fieldwork was carried out in the Catimbau National Park (PARNA Catimbau), located in the municipality of Buíque, State of Pernambuco (08°32'14" - 08°35'12"S and 37°14'42" - 37° 15' 02"W). The region has an average annual temperature of 25°C and irregular rainfall, with an average annual rainfall of 700 mm. The dry season lasts 6 to 8 months (August-February), with November being the driest month, and the rainy season lasting from March to July, with May being the period with the highest rainfall (SADMET/INMET 2023; Sudene 1990 ; Athiê-Souza et al. 2019).

We chose the Caatinga, considered the most diverse among dry tropical forests (Silva et al. 2017), due to its high frequency of chiropterophilous species, making it one of the most notable areas for such species globally (Machado and Lopes 2004; Quirino and Machado 2014; Domingos-Melo et al. 2023). Dry forests represent approximately 43% of all tropical forests and harbor high levels of biodiversity (Silva et al. 2020), hosting 31 genera of endemic plants (Queiroz et al. 2017). In contrast to other forests where chiropterophilous species commonly occur in relatively low densities, the abundance of chiropterophilous species in the Caatinga facilitates the measurement of ecological processes at the population and community levels (Domingos et al. 2023).

Fieldwork was conducted in the Catimbau National Park (PARNA Catimbau), located in the municipality of Buíque, State of Pernambuco (08°32'14" - 08°35'12"S and 37°14'42" - 37°15'02"W). The region has an average annual temperature of 25°C and irregular rainfall, with an average annual precipitation of 700 mm. The dry season lasts for 6 to 8 months (August-February), with November being the driest month, and the rainy season concentrates from March to July, with May having the highest rainfall (SADMET/INMET 2023; Sudene 1990; Athiê-Souza et al. 2019).

3.2.2. Species studied

To estimate the mechanical fit between flowers and bats, we selected eleven bat-pollinated plant species distributed across 10 genera from six angiosperm families (Table 1). The selected species were: *Bauhinia acuruana* Moric, *B. Pentandra* (Bong.) D. Dietr, *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl, *Dyckia spectabile* (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Baker (formerly *Encholirium spectabile*), *Hymenaea cangaceira* R.B.Pinto, Mansano & A.M.G.Azevedo, *Harpochilus neesianus* Mart. ex Nees, *Mimosa lewisii* Barneby, *Neocalyptrocalyx longifolium* (Mart.) Cornejo & Iltis, *Pilosocereus pachycladus* F.Ritter, *Xique-xique tuberculatus* (Werderm.)Lavor & Calvente and *Tarenaya longicarpa* Soares Neto & Roalson. For comparative purposes, we also included nine plant species occurring in the study area that are proven to be pollinated by bats, based on the list presented by Domingos-Melo et al. (2023).

Some species were sampled in different locations in the Park, such as *Bauhinia acuruana* (Serrinha, Pedra do Padre), *Bauhinia pentandra* (Vila do Catimbau, Pedra do Cachorro), *Dyckia spectabilis* (Serrinha, Alto das Torres), *Harpochilus neesianus* (Trilha das Torres), *Mimosa lewisii* (Pedra do Cachorro, Serrinha), *Neocalyptrocalyx longifolium* (Pedra do Cachorro, Serrinha, Alto das Torres), *Pilosocereus pachycladus* (Serrinha, Pedra do Cachorro, Alto das Torres), *Xique-xique tuberculatus* (Serrinha, Pedra do padre, Pedra do Cachorro, Alto das torres), *Tarenaya longicarpa* (Vila do Catimbau, Alcobaça). Individuals of *Hymenaea cangaceira* were sampled in Vila do Catimbau, and individuals of *Cynophalla flexuosa*, in Pedra do Padre.

We carried out the fundamental Inaccuracy (operational measurements carried out on the flower itself) (Table 2), and the pollen and ovule count of each species (Table 3).

3.2.3. Pollen deposition sites on bat bodies

In addition to floral morphology classifications, we also describe potential areas of pollen transfer on the bodies of pollinating bats. Although fruit bats can play a significant role as pollinators (Diniz et al. 2023; Domingos-Melo et al. 2023), this study focused exclusively on the mechanical adjustment that occurs between flowers of plants specialized in nectar-feeding bats, namely those belonging to the subfamilies *Glossophaginae* and *Lonchophyllinae* (Phyllostomidae). At least five species of bats from these subfamilies were recorded in the study area: *Anoura geoffroyi* Gray, 1838, *Glossophaga soricina* Pallas, 1766 (*Glossophaginae*), *Lonchophylla inexpectata* Moratelli and Dias, 2015, *L. mordax* Thomas, 1903, and *Xeronycteris vieirai* Gregorin and Ditchfield, 2005 (*Lonchophyllinae*) (Bernard et al. 2023). Despite having different nectar ingestion methods, *Glossophaginae* and *Lonchophyllinae* bats visit flowers in hovering flight with similar behavioral characteristics (Tschapka et al. 2015). Furthermore, the striking similarity in size and body structure of these bats makes them functionally comparable in their requirements for flower-pollinator mechanical tuning (Diniz et al. 2023). Here, we refer to the general bauplan of visiting bats to determine pollen deposition sites. In this regard, for classification, the body of bats was divided into eight parts, in which contact with floral reproductive structures and pollen deposition was verified: i) face, ii) head, iii) neck, iv) thorax, v) belly, vi) wings, vii) back and viii) uropatagium.

We chose not to capture bats with mist nets and then collect pollen from their bodies, because, as observed in the field, grains from different parts of the body were mixed when the bats struggled in the net, especially the pollen deposited on their wings and portions. ventral. Therefore, we resort to focal observations and photographic records for this purpose. Given that nectar-feeding bats make flower visits in less than a second (Muchhala and Thomson, 2010), description of visit details in focal field observations has been limited to items such as the bat's direction of approach (frontal, from above, or below) and the way of contact with the flower (hovering or grabbing the flowers in flight). However, the specificities of the moment of the visit do not escape a good camera lens. Consequently, the determination of pollen deposition sites on bat bodies was carried out using photographs and videos taken with a Canon Rebel T3i camera + 70-300mm f/4-5.6 DG Macro lens and a Sony HDR-PJ710 Handycam NightShot, respectively. . The use of these images made it possible to visualize the place of contact between the reproductive structures and the bat's body at the exact moment of the visit. Furthermore, it was possible to verify the marks of pollen recently deposited on the bat's body in photos that show the bat leaving the flower immediately after the visit (e.g.: Figure 1 – A, D).

Finally, like several of the chiropterophilous species included in this work, previously published studies on pollination biology also provided information on the mechanical adjustment between flowers and bats (Locatelli et al. 1997; Machado and Lopes 2004; Machado and Vogel 2004; Vogel et al. 2004, 2005; Rocha et al. 2009; 2020a,b,c; 2022, 2023).

After careful analysis, it was possible to determine the different pollen placement strategies for each plant species. Here, we classify flowers into three categories as proposed by Minnaar et al. (2019a): i) trace, ii) stamp and iii) diffuse. Trace placement of pollen requires that anthers be dragged along a part of the pollinator's body in a consistent direction, leaving a trail of pollen. Stamp pollen placement refers to pollen placement where the anthers are not dragged by the bodies of the vectors, but instead stamp the pollen onto the bodies of the vectors in a single contact event. Diffuse pollen placement includes any mechanisms that place pollen over large undefined areas of vectors.

3.2.4. Characterization of Floral Morphology

We considered several functional aspects in characterizing the flower-pollinator mechanical adjustment of the studied plant populations (Figure 1). Thus, we describe floral morphology through five characteristics that can summarize the main aspects important for flower-pollinator mechanical adjustment. They are: i) floral type; ii) symmetry of the vegetative whorls; iii) symmetry of reproductive whorls; iv) type of herkogamy; and v) orientation of reproductive structures. Below we indicate how each of these characteristics was organized into different categories.

For floral type, we used categories from the classic literature on pollination biology (e.g., Faegri and Pijl 1979; Endress 1994), considering general aspects of floral morphology, especially the way of accessing floral resources. Seven categories were considered: i) brush; “pseudobrush”; ii) bell; iii) funnel/infundibuliform; iv) standard; v) plate; vi) throat; and vii) tubular. Here, we include the “pseudobrush” floral type for flowers that have many stamens, however, have a specific location for pollen deposition.

Regarding symmetry, we based our classification on the work of Spencer and Kin (2018), who categorized flowers into three groups: asymmetrical (without symmetry), bilateral (zygomorphic – with a single plane of symmetry) and radial (actinomorphic – with several planes of symmetry). We decomposed symmetry into two components: the first related to the vegetative whorls (calyx and corolla), mainly with regard to the attractiveness and behavior of the pollinator during the visit; the second related to reproductive structures (androecium and gynoecium), determining the pollen transfer sites on the pollinator's body.

To understand the distribution of reproductive structures within the floral space, we classified chiropterophilous flowers adapting the classification proposed by Webb and Lloyd (1986). Considering

the importance of plant-animal interaction, the authors categorized herkogamy into classes that distinguish floral types based on the position of anthers and stigmas in relation to the pollinators' foraging trajectory: i) Approach herkogamy - ApH, in which the stigma is positioned in front of or above the level of the anthers, constituting the pollinator's initial contact with the stigma; ii) Reverse herkogamy - ReH, when the stigma is positioned behind or below the level of the anthers, constituting the pollinator's initial contact with the anthers; iii) Absent herkogamy - AbH, when the anthers and stigma are at the same level and make contact with the pollinator at the same moment during its approach, or when there is no clear determination of the method of approach.

With regard to the orientation of reproductive structures, we use four categories: i) frontal (when the reproductive organs come into contact with the pollinator in the exact direction of their approach, without pointing upwards or downwards); ii) stenotrophic (reproductive organs curved upwards, resulting in the deposition of pollen on the ventral surface of the pollinator); iii) nototribes (reproductive organs curved downwards, promoting pollen deposition on the dorsal surface of the pollinator); and iv) all (when all approach directions are possible).

3.2.5. Morphometry of Operational Distances of Floral Reproductive Structures

Floral morphometry for each species was performed using anthesis flowers (sample sizes are indicated in Table 2). In some species, the measurement of operational distances from reproductive structures was carried out in the field, since the use of fixing agents could cause morphological changes in some species (e.g., *Bauhinia acuruana*, *B. pentandra*, *Harpochilus neesianus*, *Hymenaea cangaceira*) or loss of structures sensitive to handling (e.g., *Calliandra aeschynomoides*, *Neocalyptrocalyx longifolium*, *Tarenaya longicarpa*) (Table 1). For species with linear pistils/filaments and greater resilience to management (*Dyckia spectabile*, *Mimosa lewisii*, *Pilosocereus pachycladus* and *Xiquexique tuberculatus*) (Table 1), their flowers were immersed in a container with 70% alcohol and their reproductive structures were measured in the laboratory.

In each species, we measured the operating distance of reproductive structures, defined as the linear distance from the center of the anthers (male operating distance) or the center of the stigma (female operating distance) to a reference point representing the nectar access point. We established a benchmark for each floral type based on observations of pollinator behavior. This included considerations such as where the bat accesses nectar, the position of reproductive structures, and their contact with the animal's body during flower visits. In flowers with an open morphology (with exposed nectar), the operational distances from the nectar disc to the center of the reproductive structures were measured. In tubular or infundibuliform flowers, measurements were taken based on the narrowing of the nectar chamber, as it is at the limit of access to the bat's snout in these flowers that the adjustment

occurs, where the bat inserts part of its tongue to access the resource. To measure floral phenotypes, we used a digital caliper (Mitutoyo Digimatic SR44).

3.2.6. Quantification of Investment in Pollen Production

To perform the pollen count, we collected pre-anthesis floral buds from different individuals of each species ($n=5$ to 10). We then placed the buds in plastic containers containing 70% alcohol for conservation. For flowers with a total pollen count greater than 2,000 grains, we performed an estimation using a Neubauer chamber following a standard protocol (Moura et al., 1987). The anthers were dissected in a watch glass containing a 1ml solution of lactic acid and glycerin in a 3:1 ratio. The content was thoroughly homogenized and subsequently deposited in the Neubauer chamber using a Pasteur pipette. Pollen grains were viewed and counted under an optical microscope. For species with less than 2,000 pollen grains per flower or with large pollen grains ($>100\mu\text{m}$), preventing their entry into the Neubauer chamber (for example, *Bauhinia* spp.), we performed direct grain counting on a histological slide. In species with two levels of anthers, such as *Bauhinia* spp, we used two of the small anthers and two of the large anthers. A drop of glycerin was used to dissect each anther and after homogenizing the contents, we finished the process with a coverslip.

The number of eggs in each ovary was counted in a Petri dish under a stereomicroscope (4.0x magnification). The pollen/ovule ratio (P/O) was obtained by multiplying the pollen grains per anther by the number of anthers in the flower and dividing by the number of ovules.

3.2.7. Statistical analysis

We compared the frequencies of pollen placement strategies employed by the plant guild studied, as well as the frequencies at which different bat body parts were exploited as pollen transport sites. To do this, we ran a chi-square homogeneity test using the 'stats' package in R. Additionally, we plotted the proportion of species exploring each body part, along with its 95% confidence interval, and compared it with the expected proportion to identify body parts with larger or smaller proportions than expected. This analysis was performed with the 'Hmisc' package in R software (Harrell & Harrell 2019).

To compare the frequencies at which various categories within each floral morphological trait occur within the guild of bat-pollinated plants under study, we employed chi-square homogeneity tests using the 'stats' package in R (R Core Team, 2021). Additionally, a Similarity Analysis (ANOSIM) was performed on the outlined floral morphological traits, followed by Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS) to explore the morphospace referring to floral morphologies. Initially, ANOSIM was used to statistically evaluate the significance of differences between sample groups, taking into account

the types of pollen placement. Subsequently, NMDS visually represented the dissimilarity between samples in a reduced-dimensional space. To perform both ANOSIM and NMDS, the morphological categories were transformed into dummy variables, allowing a quantitative representation of floral attributes. The analyzes were performed using the ‘vegan’ package in the R programming environment (Oksanen et al. 2019).

To evaluate the differences in variations in male and female operational distance between the studied species, a Linear Mixed Model (LMM) was used. The Coefficient of Variation (CV) of operational distances was used as the response variable, while sex was the predictor variable and the species was treated as a random variable. This test was carried out using the ‘nlme’ package in the R software (Pinheiro et al. 2017).

To evaluate the accuracy of each chiropterophilous species studied, we used fundamental inaccuracy indices proposed by Armbruster et al. (2009b). The fundamental accuracy refers to measurements carried out on the flower itself, different from the accuracy carried out that evaluates the behavior of the pollinator in the intrafloral space. Adaptive accuracy provides a heuristic representation of how well a phenotype aligns with its expected optimum in a population, offering insights into the fitness level of that phenotype. The fundamental inaccuracy indices only consider floral morphology, disregarding the effect of the pollinator in this adjustment. These indices are calculated based on the means and variances of the phenotype of interest in a population, as well as their respective optimum.

The formula used for imprecision was $i = (M_f - M_o)^2 + V_o + V_f$, where M_f is the mean of the phenotype in question, M_o is the mean of the optimum, V_o is the variance of that optimum and V_f is the variance of the phenotype. For comparative purposes, it is crucial to scale the values of imprecision obtained by dividing them by the square of the mean of the analyzed phenotypes (i/M_f^2) (Armbruster et al., 2004, 2006, 2009b, 2014ab). With regard to floral reproductive structures, the ideal location of pollen placement on the pollinator should be related to the location expected for stigmas of the same species to remove pollen from flowers (Armbruster et al., 2009a). Thus, for each species, we consider male operating distances as our phenotype of interest and female operating distances as our optimum (measured as described above) as reciprocal optima (Armbruster et al., 2004, 2009a, 2020). To assess the relative contribution of each component to the inaccuracy index, we performed an LMM, where the percentage contributions to the inaccuracy index were the response variables, the components were the predictor variable, and the species was treated as a random variable. This test was performed using the ‘nlme’ package of the R software. Finally, to determine whether there were differences in the inaccuracy rate between species with different pollen placement strategies, we conducted a Kruskal-Wallis rank sum test using the ‘stats’ package in R (R Core Team, 2021).

Regarding investment in pollen production, we examined whether species with different pollen placement strategies differed in total pollen production per flower and P/O ratio. To do this, we performed a Kruskal-Wallis rank sum test using the 'stats' package in R. We also investigated whether these attributes were related to the inaccuracy index of each species through Spearman's rank correlation, performed with the 'stats' package. 'stats' in R.

3.3. RESULTS

3.3.1. Pollen deposition sites on bat bodies

A great diversity of contact modes was observed between the reproductive floral structures of the plants studied and the bodies of bats (Figure 1; Figure 2). These conditions resulted in a significant difference in the frequency in which bat body sites were used as pollen deposition sites ($\chi^2 = 15.98$; $df = 7$; $p = 0.025$). Some plant species touch multiple areas of the bat's body. The face and neck were the most common parts of the body to come into contact with the reproductive structures of flowers, with each of these locations capable of carrying pollen from 55% of the species within the populations (Figure 1). The percentage of plant species within populations that deposit pollen on bat thoraxes was 50%. Now, the percentage of species that touch other areas of the bat's body, such as the head, belly, wings and back, represent 40%, 25%, 20% and 15%, respectively. The uropatagium was the least used place for pollen transport, with only one plant (5%) recorded that deposits pollen in this area (Figure 1).

Regarding the type of pollen placement, in addition to not detecting significant differences in the frequencies of the strategies used ($\chi^2 = 0.1$; $df = 2$; $p = 0.95$), there was practically no variation between the different categories, with frequencies varying between 35%, in flowers with diffuse and trace deposition, and 30% in flowers with stamp-type deposition (Figure 3).

3.3.2. Characterization of Floral Morphology

No significant differences were found in the frequencies of occurrence of floral types between species ($\chi^2 = 2.4$; $df = 7$; $p = 0.93$), although these frequencies varied widely. Brush and pseudobrush floral types predominated, occurring in 30% of the species analyzed. These floral types are generally characterized by numerous long stamens and reduced perianth. We then recorded the standard floral type in 20% of the species. This type is characterized by vegetative whorls facing upwards, acting as a flag that directs the pollinator's visit, while the reproductive structures are facing downwards. The bell-shaped, tubular, and funnel-shaped floral types were represented by 15%, 10%, and 5% of the samples, respectively, with the majority of them being representatives of the Cactaceae family. All of these types

are characterized by presenting their nectar at the end of a tubular-conical floral structure, differing in terms of narrowing and length. As a result, the bat must insert its tongue, snout or head into the flower to access the resource. The dish-shaped floral type, characterized by very open vegetative whorls and completely exposed nectar, occurred in 15% of the species. The throat floral type, represented 5% of the sample, being represented by *Harpochilus neesianus*, which has a bilabiate flower with a tubular structure in the lower part, where the nectar is presented.

Regarding symmetry, no significant differences were detected in the frequencies of types between flowers, whether considering only vegetative structures ($\chi^2= 3.7$; $df=2$; $p= 0.16$) or reproductive ($\chi^2=3.2$; $df=1$; $p=0.07$). In this sense, 40% of the species presented flowers with actinomorphic symmetry both in vegetative and reproductive terms. Next, we found flowers with vegetative structures exhibiting bilateral symmetry and reproductive structures with actinomorphic symmetry, representing 30% of the sample. Flowers with asymmetrical vegetative whorls and bilaterally symmetrical reproductive structures represented 15% of the populations studied. Only two species (10%) exhibited vegetative structures with actinomorphic symmetry combined with zygomorphic symmetry in reproductive organs. A single species (5%) was completely zygomorphic.

Regarding the flower's potential to boost the bat approach, the only attribute with differences in frequencies between categories was herkogamy ($\chi^2= 13.3$; $df=2$; $p= 0.001$), with 70% of species without herkogamy, followed by 25% with approach herkogamy (ApH), and a single species (5%) with reverse herkogamy (ReH), namely *Neocalyptrocalyx longifolium*.

In terms of the orientation in which pollen is deposited, no significant differences were detected between categories ($\chi^2= 5.5$; $df= 3$; $p= 0.14$), despite a large variation in their frequencies (40% stenotribic deposition, 35% frontal deposition, 25% without specific orientation, and only 5% nototribic). The ANOSIM analysis revealed striking morphological differences between flowers employing different pollen placement strategies ($R=0.414$; $p= 0.001$), as can be visualized in the NMDS (Figure 2).

3.3.3. Morphometry of Operating Distances of Floral Reproductive Structures

The operational distances of the reproductive structures varied widely between the different species of the studied guild, as submitted to morphometric analyzes (Table 2). The longest structures were found in *Harpochilus neesianus*, reaching 65.8 ± 8.1 and 58.8 ± 10.6 mm in male and female functions, respectively. On the other hand, the smallest occurred in *Mimosa lewisii* with 7.0 ± 0.8 and 7.4 ± 2.2 mm, respectively. The operating distances of the other species were evenly distributed between 10 and 45 mm. Regarding the variation in operating distances within each species, the coefficients of variation (CV) varied from approximately 10% to 45%, with no differences in CV between the

operating distances of males and females of the studied species (numDf=1; denDF= 10; $F=3.58$; $p=0.088$). One A notable exception occurred in *N. longifolium*, in which the operating distance reached more than 100% CV.

Considering factors related to precision in pollen transfer, we found that the components determining inaccuracy contributed differently to the determination of inaccuracy rates for the species in the populations studied (numDf=2; denDF=20; $F=6.33$; $p=0.007$). In this sense, the main factor that contributed to the inaccuracy rates was the Optimum Variance (interpreted here as female operating distances), while Departure from Optimum (difference between the average male and female operating distances) and Trait Variance (interpreted here as male operative distances) played a secondary role (Figure 4). There were no significant differences in inaccuracy rates between species with different pollen deposition strategies ($H=3.48$; $df=2$, $p=0.176$).

3.3.4. Quantification of Investment in Pollen Production

We found a large variation in both the investment in pollen production and the number of ovules among the species in the analyzed populations, varying by four and three orders of magnitude, respectively. Cactaceae stood out with the highest values of both pollen per flower and ovules, with *Xiquexique tuberculatus* reaching a production of more than ten million pollen grains per flower and $2,617 \pm 17$ ovules. On the other hand, *Ipomoea vespertilia* did not exceed ten thousand pollen grains and had only four ovules. However, when analyzing the P/O ratio, we find a slightly narrower variation, within two orders of magnitude. At this point, *Mimosa lewisii* stands out with the highest P/O, 283126 ± 16564 , while *Bauhinia pentandra*, 1481 ± 267 , had the lowest (Table 3).

The total amount of pollen per flower ($H=1.6838$; $df=2$; $p=0.431$) regarding P/O ($H=3.8171$; $df=2$; $p=0.148$) varied between species, regardless of their pollen placement strategies. Furthermore, no relationship was found between investment in pollen production and the precision of pollination mechanisms. The inaccuracy indices of the species were not related to the total pollen per flower ($\rho=0.18$; $p=0.632$) nor to their P/O ratios ($\rho=0.02$; $p=0.972$).

3.4. DISCUSSION

Our investigation into the mechanical tuning of reproductive structures in chiropterophilous flowers for bat pollination has yielded diverse and intriguing results, offering valuable insights into the community-level dynamics of this unique pollination system. We found that certain parts of the bat's body (i.e., face and neck) are much more frequently contacted by flower reproductive structures than others. Furthermore, we observed that the three categories of pollen placement strategies employed are equally distributed among the plant species in the populations, and each is associated with a specific

set of floral characteristics. In the same vein, almost all categories present in each floral type were evenly distributed among the populations, while the only attribute for which prevalence was detected was the absence of oriented herkogamy, present in 70% of the species. Morphometric analyzes revealed significant variations in the species' operational distances, with some outliers demonstrating exceptional variability. By estimating the potential accuracy of pollen transfer, the study identified key factors that contribute to the fundamental inaccuracy rate, with female function inaccuracy playing a more significant role across species.

We observed that investment in pollen production did not differ between plants with different pollen placement strategies, nor was it correlated with fundamental precision. We delve into a comprehensive explanation of how distinct floral traits are intrinsically associated with various pollen placement strategies, and explore how these processes can shape the intricate pollen landscape on bat bodies. Finally, we highlight the role of different pollen deposition strategies in allowing the coexistence of multiple plant species within the chiropterophilous community of the Caatinga Dry Forest.

The characterization of floral morphology in the plant species in this study did not reveal prevalent categories for most of the attributes analyzed. The lack of predominance suggests that the flowers of these species integrate several characteristics to exploit bat bodies as diverse pollen transport sites. As predicted, distinct pollen deposition strategies were associated with specific sets of floral morphological characteristics. Flowers that employ diffuse pollen placement, for example, predominantly exhibit a brush-type morphology. This floral type is characterized by easily accessible nectar, occasionally completely exposed, and numerous stamens. These characteristics allow access to resources from any direction, with pollen being deposited on several parts of the bats' bodies simultaneously. Furthermore, diffuse pollen deposition also occurred in other floral types, but in these cases it seemed to be a characteristic conditioned by the considerable length of the reproductive structures. An example is the standard type of *Tarenaya longicarpa*, in which long stamens deposit pollen diffusely, mainly on bat wings. Although this species offers nectar in completely exposed drops (Domingos-Melo et al., 2020c), the petals seem to guide bat visits (Machado et al., 2005). Similarly, the dish-shaped floral type of *Hymenaea cangaceira* and *Lafoensia glyptocarpa* have fully exposed nectar (Domingos-Melo et al., 2020c) and long stamens radiating from the center of the flower.

Among the flowers with trace-type pollen deposition, those with sternotribic pollen deposition stand out, covering several floral types such as standard, funnel and plate. A detailed discussion of each type and citation of relevant studies is required. However, a unique case in our sample is evident in the flowers of *Mimosa lewisii*, which, despite having a brush-like morphology, show trace-type pollen deposition due to the short length of the reproductive structures (Vogel et al., 2005). Most flowers that

exhibit stamp-type pollen placement are found on cactus tubular or bell-shaped flowers, with frontal pollen deposition on bat faces (elaborated here on cacti). Notably, the throat type of *Harpochilus neesianus* (Vogel et al., 2004) deviates from this pattern, utilizing a lever mechanism that pushes the reproductive structures against the visiting bat.

Despite the lack of significant difference in inaccuracy rates between species with different pollen deposition strategies (Table 2), intriguing patterns were observed. Species employing the stamp-type pollen placement strategy, namely *Harpochilus neesianus* (0.066) and *Pilosocereus pachycladus* (0.067), exhibited the lowest inaccuracy values. In contrast, *Xiquexique tuberculatus*, using the same strategy, demonstrated intermediate values. Flowers that employed the trace-type pollen placement strategy showed intermediate inaccuracy values, including species such as *Mimosa lewisii*, *Bauhinia pentandra*, *B. Acuruana*. Finally, species with a diffuse pollen deposition strategy, specifically *Tarenaya longicarpa* and *N. longifolium*, presented the highest imprecision values. However, other species that employed the same strategy, such as *Calliandra aeschynomoides* and *Hymenaea cangaceira*, exhibited intermediate values (Table 2).

In our study, chiropterophilous species employ several strategies to avoid interspecific pollen transfer. Some species with similar floral morphology manage to avoid phenological overlap, while others avoid morphological overlap through differential deposition of pollen on the pollinator's body, as is the case of *Bauhinia* species that flower simultaneously, and present overlapping flowering period and floral morphology. similar. *Bauhinia pentandra* showed greater floral precision compared to *B. acuruana*, despite presenting greater variation in female function, deviating from the optimum point for pollination. The species share the same pollinators, the bats *Glossophaga soricina* and *Lonchophylla mordax* (Albuquerque-Lima et al., 2023d). It is possible that the female function of *B. pentandra* has evolved to touch more areas of the bat's body, avoiding the morphological overlap of pollen with its congener, given the overlap of the species during peak flowering (Table 1), and the reproductive structures of both species touching the ventral region of the bat's body (Albuquerque de Lima et al., 2023d). According to Cruden (2000), the number of pollen grains must be positively related to the area of pollen deposition on the pollinator's body. In this context, if the distance from the optimum increases, the pollen grains become further away, reducing the probability of the grains reaching the stigma. Therefore, there may be pressure for *B. pentandra* to increase pollen grain production.

Sympatric plant species that share the flowering period, floral morphology, and the same region of the pollinator's body for pollen deposition may lose pollen grains whenever the vector touches the reproductive organs of its competitor (Natalis and Wesselingh, 2012a). However, divergences in floral morphology can mitigate this competition by depositing pollen in different regions of the pollinator's body (Armbruster et al., 1994; Muchhala and Potts, 2007b; Albuquerque de Lima et al., 2023d).

Muchhala (2008) reported evolutionary divergence in floral phenotype in species of *Burmeistera* (Campanulaceae), which avoid morphological overlap and, consequently, pollen mixing, by selecting different regions of the bats' body for pollen deposition and removal. The variation observed in the length of the species' reproductive structures corresponded to pollination by bats of different sizes (*Anoura geoffroyi* and *A. caudifer*), spatially compartmentalizing the pollinators' bodies and allowing the species to coexist. Another example was observed in *Pedicularis* species, demonstrating significantly greater adaptive precision in female function than in male function. Despite presenting sympatry and sharing pollinators, they avoid morphological overlap by having "private sites" for pollen deposition, allowing the stigma to collect pollen from different areas of the pollinator's body (Armbruster et al., 2014a).

Harpochilus neesianus exhibited the highest floral precision among the species in this study (Table 2). The variation observed in female function is related to the fact that the species has an exclusive site for pollen deposition and removal on the bat's body – the uropatagium membrane (Vogel et al., 2004; Domingos-Melo et al., 2023). According to Armbruster et al. (2014a), having pollen secure in a private area of the pollinator's body may confer an advantage to the plant, potentially increasing fitness when visitation rates are high and pollen delivery is uncertain (Minnaar et al., 2019; Konzmann et al., 2020; Casper et al., 2021). *Harpochilus neesianus* is an ecological functional specialist species, interacts only with the bat *Glossophaga soricina* (Ollerton et al., 2007), and its flowers present an enlargement at the entrance of the small tubular structure, possibly the result of the selective pressure exerted by the bats (Joly et al., 2018). Furthermore, its flowers restrict access to nectar through filaments pushed by the bat before inserting its tongue into the floral tube. Although it flowers year-round (Table 1), the species overlaps in peak flowering with *Neocalyptrocalyx longifolium* and *Tarenaya longicarpa*. Furthermore, relying on a single species of bat for pollination, it presents high pollen production as a strategy to guarantee pollination in the pollinator's first visits, as bats are considered generalist pollinators (Reis et al., 2007; Rocha et al., 2020). Thus, floral specialization, in addition to increasing floral precision (Rech et al., 2014), promotes visits by pollinators and hinders visits by inefficient pollinating agents (Aigner, 2004).

Pilosocereus pachycladus and *Xiquexique tuberculatus* avoid overlapping in flowering peak (Table 1), as they share pollinators, the bats *Glossophaga soricina* and *Lonchophylla mordax* (Rocha et al., 2007, 2020). The behavior of inserting the head into the tubular structure of the flower, causing pollen to be deposited on its face, is similar in both bat species (Rocha et al., 2007, 2020). Furthermore, the variation observed in the average operating distances of the female and male functions of *Xiquexique tuberculatus* indicates that their reproductive structures may touch more areas of the bat's body (Table 2). In the absence or rarity of pollinating bats, both species ensure pollination, receiving

daytime visits from *Xylocopa grisescens* bees, contributing as alternative pollinators (Rocha et al., 2007, 2020). However, the bat can visit more *X. tuberculatus* flowers, since its tubular structure can accumulate more nectar due to its greater length (26.47 ± 6.96) compared to *P. pachycladus* flowers (15.68 ± 3.62). Furthermore, it is possible that, with the bat's frequency of visits, *X. tuberculatus* is stimulated to produce a greater quantity of pollen (Table 3).

Tubular flowers secrete and store nectar at the base of the tubes, and the extreme length of bat tongues evolved with these flowers, increasing tube length to extend the duration of visits by altering the mechanical fit and precision between flower and pollinator. (Muchhala and Thomson, 2009; Caruso et al., 2019). Nectar-feeding bats, members of the *Glossophaginae* tribe, can perform floating flights (Winter and Helversen, 2003; Fleming et al., 2009; Göttinger et al., 2019). These bats are highly specialized in collecting nectar, characterized by an elongated snout, teeth reduced in number and size (Tschapka and Dressler, 2002; Fleming et al., 2009), and relatively long tongues compared to their body size (7.5 -30 g body weight).

In *Cactaceae* species, a curtain of anthers surrounds the interior of the floral tube and, when inserting their heads into this tube, bats receive a pollen mark on their face. Although floral morphology does not restrict the presence of floral visitors, it promotes floral fit to the nectarivorous bat, and stamp pollination determines that bats are potential pollinators, maximizing pollen transfer (Muchhala and Thomson, 2009). The deposition of pollen in a specific region of the pollinator's body could be a way for the plant to assert that a certain area of the animal's body belongs to it, considering the adhesive characteristics of the bat's skin (Muchhala and Thomson, 2010). Furthermore, this could be a strategy to compensate for the low floral display presented by these species, as they produce few flowers per day (Gentry, 1974; Rocha et al., 2007), possibly suffering more intense negative effects from pollen loss for other species. species (Bergamo et al., 2019).

Tarenaya longicarpa exhibits diffuse pollen deposition, in which anthers deposit pollen in multiple areas of the bat's body, while pollen removal is stenotribic. The observed variation in female function indicates an increase in stylet length, probably to touch more areas of the bat's body, as the species shares the same flowering period with *Bauhinia pentandra*. The overlap in female function averages observed in the species of *B. pentandra* and *Tarenaya longicarpa* suggests that they are in competition for space in the pollinator's body (Table 2), as they share a common pollinator, the bat *Glossophaga soricina* (Machado et al., 2006). However, there is no negative effect on the pollination of these species due to the divergence in their flowering peaks. Furthermore, the fact that *B. pentandra* displays greater floral precision than *Tarenaya longicarpa* is consistent with expectations for flowers with fused floral parts (Armbruster et al., 2009b). The floral morphology of *B. pentandra* presents a mechanical adjustment of flower to pollinator, as pollinator morphology exerts strong selection on

floral structures (Muchhala and Thomson, 2009; De Jager and Peakall, 2019). This adjustment is more easily observed in flowers that promote pollen deposition in a specific region of the pollinator's body, such as those with tubular morphology (Caruso et al., 2018).

The flowers of *Hymenaea cangaceira* are generalists, as they do not restrict access to floral resources and use many pollinators available in a habitat (Armbruster and Muchhala, 2009a). Surprisingly, the species showed high accuracy, with imprecision values even lower than those obtained by some species with restrictive floral morphology (Table 2). Its floral morphology allows the bat to insert its head deeply into the flower and touch the stigma (Domingos-Melo et al., 2020). The species has an arboreal habit, sequential flowering, and each individual remains in flower for two to four weeks, exposing many flowers per night to attract pollinators. The divergence in flowering periods with *Bauhinia pentandra* and *Xiquexique tuberculatus* may result from selection against shared pollinators, as observed in the genus *Vriesea* (Bromeliaceae) (Araújo et al., 1994), as the flowering peak of *H. cangaceira* may overlap with of the mentioned species.

Neocalyptrocalyx longifolium was the one that deviated most from its optimum pollination point, presenting precision in the male function and high inaccuracy in the female function. The species presents late-acting self-incompatibility to avoid self-fertilization (Primo and Machado, 2009) and therefore invests significantly in pollen production and dispersal to ensure reproduction due to its high dependence on bats for pollination. Furthermore, the species is andromonoecious (Primo and Machado, 2009) and although it invests in many flowers to attract pollinators, only some will be available for pollination, as in others the female organs do not function. *Tarenaya longicarpa* has a high dependence on pollinators for reproduction (Parma et al., 2023); However, the species is polygamodioecious, having male, female and bisexual flowers on the same individual (Machado et al., 2006), which probably contributed to the high imprecision in female function.

The high pollen production exhibited by chiropterophilous species may be a strategy used to compensate for the diffuse pollination that some species carry out; By spreading pollen across the bat's body, they can ensure that a small portion is removed by specific stigmas. Furthermore, the high investment in pollen grains can be interpreted as a contribution to female sexual function, as this presented the highest coefficients of variation, demonstrating greater precision in pollen removal compared to deposition carried out by anthers.

In *Calliandra aescynomenoides* and *Mimosa lewisii* the contribution to pollen production may be even more intense, as the pollen grains of these species are grouped into polyads and tetrads, respectively (Table 3). According to Cruden et al. (1977, 1979), the pollen-ovule ratio of species with clustered pollen grains tends to be low; however, in this study, this was confirmed only for the number of eggs. We expected that the male function of chiropterophilous flowers would contribute more to

imprecision due to the production of more anthers per flower (Von Helversen, 1993), more pollen per anther (Sazima et al., 2003), and more male flowers in monoecious systems (Ramírez et al., 2003). al., 1984). The male function involves spreading pollen on the animal's body, and part of the variation in male function is related to the behavior of the bat, which remains on the plant for less than a second (Heithaus et al., 1974; Sazima and Sazima, 1977; Rocha et al. al., 2007), remaining motionless during its ephemeral stay in the flower. The feminine function, on the other hand, is limited to touching the stigma. Therefore, the stigma undergoes greater variation to touch more areas of the bat's body, since the stigmatic surface area is much smaller when compared to the bat's body surface area (Muchhala and Thomson, 2010).

3.5. CONCLUSION

This study elucidates several pollination strategies used by chiropterophilous plants, highlighting their adaptability to optimize reproductive success. The mechanical alignment between floral structures and pollinating bats emerges as a critical determinant of efficient pollination in these ecosystems. Although the differences observed in the Inaccuracy indices of the species in this study present close values, with subtle differences, it was possible to notice that some species that present floral morphology of the brush and pseudobrush type, such as *Hymenaea cangaceira*, *Calliandra aeschynomoides*, *Dickia spectabile* and *Tarenaya longicarpa* presented greater adaptive precision in female function in relation to others that have more restrictive floral morphology. This reflects the precision in the removal of pollen by the stigmas of these species, as, by diverging in the length of the style, the species avoid the morphological overlap of pollen on the body of the same pollinator, as they may differ in the use of pollinators, since the increase in Style length favors pollen removal from other areas of the pollinator's body, potentially reducing interspecific competition.

The *Cactaceae* species in this study share the flowering period, however, they avoid overlapping in the flowering peak with their congener. The strategy used by *Harpochilus neesianus* to present a private place for pollen deposition on the pollinator's body is undoubtedly the best resource to avoid interspecific competition. The findings contribute valuable information to the field of floral ecology, shedding light on the intricate relationships between plants and their pollinators. Notably, the study emphasizes the importance of conserving bats specialized in pollination, highlighting their role in maintaining biodiversity and promoting successful plant reproduction.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank PELD/CNPq/Catimbau Long-Term Ecological Research Project for logistical support. To CNPq for partial financial support (Universal Notice 437424/2018-9 and Research Productivity to ICM - 310508/2019-3) To FACEPE – Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (APQ-0808-2.03/16). To colleagues at the Laboratory of Floral and Reproductive Biology – Pollinate, Department of Botany, UFPE (Federal University of Pernambuco). The Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES–88882.347732/2019-0) for the Doctoral Scholarship to CASP and Financial Code 001.

REFERENCES

- Aigner PA. Floral specialization without trade-offs: optimal corolla flare in contrasting pollination environment. *Ecology*. 2004; 85(9):2560-2569. <https://doi.org/10.1890/03-0815>.
- Albuquerque-Lima S, Taylor N, Zappi D, Machado IC. Floral specialization and bat pollination in Subtribe Cereinae (Cactaceae): A morphological approach. *Diversity*. 2023 a; 5:207. <https://doi.org/10.3390/d15020207>.
- Albuquerque-Lima S, Zappi D, Taylor NP, Lowry M, Winberg M, Machado IC. North by Northwest: Are unilateral cephalium-bearing cacti bio-compasses? *Ecology*. 2023 b; 104, e4058. <https://doi.org/10.1002/ecy.4058>.
- Albuquerque-Lima S, Zappi D, Taylor NP, Lowry M, Winberg M, Machado IC. Nature's GPS: Unilateral cephalium-bearing cacti as bio-compasses. *Bulletin of the Ecological Society of America* (Online). 2023 c;1:e2093. <https://doi.org/10.1002/bes2.2093>.
- Albuquerque-Lima S, Lopes AV, Machado IC. Reproductive isolation between two sympatric bat-pollinated *Bauhinia* (Leguminosae). *Journal of Plant Research*. 2023 d. <https://doi.org/10.1007/s10265-023-01508-x>.
- Amorim FW, Galetto L, Sazima M. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology*. 2013;15(2):317–327. <https://doi.org/10.1111/j.14388677.2012.00643.x>.
- Araújo AC, Fischer EA, Sazima M. Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região da Juréia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*. 1994;17(2):113–118.
- Arendse B, Johnson SD, Niet TVD, Midgley JJ. Breeding systems and pollen-ovule ratios in *Erica* species (Ericaceae) of the cape floristic region. *International Journal of Plant Sciences*. 2021;182(2):151–160 <https://doi.org/10.1086/711475>.
- Armbruster WS, Edwards ME. Floral character displacement generates assemblage structure of Western Australian triggerplants (*Stylidium*). *Ecology*. 1994;75(2):315–329. <https://doi.org/10.2307/1939537>.
- Armbruster WS, Pélabon C, Hansen TF, Mulder CPH. Floral integrations, modularity, and accuracy. *Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes*. edited by Pigliucci M, Preston KA (eds). The evolutionary biology of complex phenotypes. Oxford University Press, Oxford. 2004:23–49. [ISBN 9780195160437](https://doi.org/10.1017/9780195160437).

Armbruster WS, Pérez-Barrales L, Arroyo J, Edwards ME, Vargas P. Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. *New Phytologist*. 2006;171(3):581–590. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01749.x>.

Armbruster WS, Muchhala N. Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? *Evolutionary Ecology*. 2009 a; 23(1):159–179. <https://doi.org/10.1007/s10682-008-9259-z>.

Armbruster WS, Hansen TF, Pélabon C, Pérez-Barrales L, Maad J. The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. *Annals of Botany*. 2009 b;103(9):1529–1545. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp095>.

Armbruster WS, Shi X-Q, Huang S-Q. Do specialized flowers promote reproductive isolation? Realized pollination accuracy of three sympatric *Pedicularis* species. *Annals of Botany*. 2014 a; 113(2):331–340. <https://doi.org/10.1093/aob/mct187>.

Armbruster WS, Corbet SA, Vey AJM, Liu S-J, Huang S-Q. In the right place at the right time: *Parnassia* resolves the herkogamy dilemma by accurate repositioning of stamens and stigmas. *Annals of Botany*. 2014 b;113(1):97–103. <https://doi.org/10.1093/aob/mct261>.

Armbruster WS, Muchhala N. Floral reorientation: the restoration of pollination accuracy after accidents. *New Phytologist*. 2020;227(1):232–243. <https://doi.org/10.1111/nph.16482>.

Athiê-Souza SM, Melo JIM, Silva LP, Santos LL, Santos JS, Oliveira LSD, Sales MF. Phanerogamic flora of the Catimbau National Park, Pernambuco, Brazil. *Biota Neotropica*. 2019;19(1): e20180622. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0622>.

Avila Jr R, Pinheiro M, Sazima M. The generalist *Inga subnuda* subsp. *luschnathiana* (Fabaceae): negative effect of floral visitors on reproductive success? *Plant Biology*. 2015;17(3):728–733. <https://doi.org/10.1111/plb.12291>.

Bergamo PJ, Streher NS, Traveset A, Wolowski M, Sazima M. Pollination outcomes reveal negative density-dependence coupled with interspecific facilitation among plants. *Ecology Letters*. 2019;23(1):129–139. <https://doi.org/10.1111/ele.13415>.

Bernard E, Barbier ES, Leal ESB, Santos FI, Pimentel NT, Pereira JSB, Hintze FSO, Bezerra JDP, Motta CMS. Morcegos no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil: Síntese de uma Década (2012-2022) de Pesquisas. *Biodiversidade Brasileira*. 2023;13(2):1–17. <https://doi.org/10.37002/biobrasil.v13i2.2384>.

Caruso CM, Eisen KE, Martin RA, Sletvold N. A meta-analysis of the agents of selection on floral traits. *Evolution*. 2019;73(1):4–14. <https://doi.org/10.1111/evo.13639>.

Casper J, Kooi VD, Vallejo-Marin M, Leonhardt SD. Mutualisms and (A)symmetry in Plant–Pollinator Interactions. *Current Biology*. 2021;31(2):R91–R99. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.11.020>.

Cordero-Schmidt E, Maruyama PK, Vargas-Mena JC, Oliveira P, Santos FAR, Medellín RA, Herrera BR, Venticinque E. Bat–flower interaction networks in Caatinga reveal generalized associations and temporal stability. *Biotropica*. 2021;53(6):1546–1557. <https://doi.org/10.1111/btp.13007>.

Cruden RW. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Society for the Study of Evolution*. 1977;31(1):32–46. <https://doi.org/10.2307/2407542>.

- Cruden RW, Hermann-Parker SM. Butterfly Pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with Observations on a Psychophilous Syndrome. *The Journal of Ecology*. 1979;67(1):155-168. <https://doi.org/10.2307/2259342>.
- Cruden RW. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution*. 2000;222(1-4):143–165. <https://doi.org/10.1007/BF00984100>.
- De Jager ML, Peakall R. Experimental examination of pollinator mediated selection in a sexually deceptive orchid. *Annals of Botany*. 2019;123(2):347–354. <https://doi.org/10.1093/aobmcy083>.
- Diniz UM, Aguiar LMDS. The interplay between spatiotemporal overlap and morphology as determinants of microstructure suggests no ‘perfect fit’ in a bat-flower network. *Scientific Reports*. 2023;13(2737). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29965-3>.
- Domingos-Melo A, Milet-Pinheiro P, Navarro, DMAF, Lopes AV, Machado IC. It's Raining Fragrant Nectar in the Caatinga: Evidence of Nectar Olfactory Signaling in Bat-Pollinated Flowers. *The Bulletin of the Ecological Society of America*. 2020;101(1):e01640. <https://doi.org/10.1002/bes2.1640>.
- Domingos-Melo A, Diniz UM, Chalegre SL, Machado IC. Sweet rain? From bat-pollinated flowers: Does sugar concentration modulate nectar retention? *International Journal of Plant Sciences*. 2020;182(1):71–77. <https://doi.org/10.1086/711080>.
- Domingos-Melo A, Albuquerque-Lima S, Diniz UM, Lopes AV, Machado IC. Bat pollination in the Caatinga: a review of studies and peculiarities of the system in the New World's largest and most diverse Seasonally Dry Tropical Forest. *Flora*. 2023;305:152332. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152332>.
- Endress PK. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge. 1994. ISBN: 9780521565103.
- Faegri K, van der Pijl L. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, London. 1979; (3a ed.). <https://doi.org/10.1016/C2009-0-00736-3>.
- Fleming TH, Geiselman C, Kress WJ. The evolution of bat pollination: A phylogenetic perspective. *Annals of Botany*. 2009;104(6):1017–1043. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp197>.
- Gentry AH. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica*. 1974;6(1):64-69. <https://doi.org/10.2307/2989698>.
- Gonzalez-Gutierrez K, Castaño JH, Perez-Torres J, Mosquera-Mosquera HR. Structure and roles in pollination networks between phyllostomid bats and flowers: a systematic review for the Americas. *Mammalian Biology*. 2022;102(2):21–49. <https://doi.org/10.1007/s42991-02100202-6>.
- Göttlinger T, Schwerdtfeger M, Tiedge K, Lohaus G. What do nectarivorous bats like? Nectar composition in Bromeliaceae with special emphasis on bat-pollinated species. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:205. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00205>.
- Harder LD, Johnson SD. Beyond P: O ratios: evolutionary consequences of pollinator dependence and pollination efficiency for pollen and ovule production in angiosperms. *American Journal of Botany*. 2023;110(6):e16177. <https://doi.org/10.1002/ajb2.16177>.
- Harrel FEJ. Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.2-0. 2019. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>.

- Heithaus ER. The role of plant-pollinator interactions in determining community structure. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1974;61(3):675–691. <https://doi.org/10.2307/2395023>.
- Johnson SD, Harder LD. The economy of pollen dispersal in flowering plants. *The Royal Society B: Biological Sciences*. 2023;290 (2008):20231148. <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.1148>.
- Joly S, Lambert F, Alexandre H, Clavel J, Lévillé-Bourret É, Clark JL. Greater pollination generalization is not associated with reduced constraints on corolla shape in Antillean plants. *Evolution*. 2018;72(2):244–260. <https://doi.org/10.1111/evo.13410>.
- Jürgens A, Witt T, Gottsberger G. Pollen grain size variation in Caryophylloideae: a mixed strategy for pollen deposition along styles with long stigmatic areas? *Plant Systematics and Evolution*. 2012;298(1):9–24. <https://www.jstor.org/stable/43496740>.
- Konzmann S, Hilgendorf F, Niester C, Rech AR, Lunau K. Morphological specialization of heterantherous *Rhynchanthera grandiflora* (Melastomataceae) accommodates pollinator diversity. *Plant Biology*. 2020;22(4):583–590. <https://doi.org/10.1111/plb.13102>.
- Locatelli E, Machado IC, Medeiros P. Floral Biology and Bat Pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in Northeastern Brazil. *Bradleya*. 1997;1997(15):28–34. <https://doi.org/10.25223/brad.n15.1997.a3>.
- Macior LW. Coevolution of plants and animals-systematics insights from plant-insect interactions. *Taxon*. 1971;20(1):17–28. <https://doi.org/10.2307/1218530>.
- Machado IC, Lopes AVF. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. *Annals of Botany*. 2004;94(3):365–376. <https://doi.org/10.1093/aob/mch152>.
- Machado IC, Vogel S. The North-east-Brazilian liana, *Adenocalymma dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany*. 2004;93(5):609–613. <https://doi.org/10.1093/aob/mch069>.
- Machado ICS, Lopes AVF, Leite AV, Neves CB. *Cleome spinosa* (Capparaceae): polygamodioecy and pollination by bats in urban and Caatinga areas, northeastern Brazil. *Botanische Jahrbücher*. 2006;127(1):69–82. <https://doi.org/10.1127/0006-8152/2006/0127-0069>.
- Medellin RA, Rivero M, Ibarra A, De la Torre JA, Gonzalez-Terrazas TP, Torres-Knoop L, Tschapka M. Follow me: foraging distances of *Leptonycteris yerbabuenae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Sonora determined by fluorescent powder. *Journal of Mammalogy*. 2018;99(2):306–311. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy016>.
- Minnaar C, Anderson B, De Jager ML, Karron JD. Plant–pollinator interactions along the pathway to paternity. *Annals of Botany*. 2019 a;123(2):225–245. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy167>.
- Moreira-Hernández JI, Muchhala N. Importance of pollinator-mediated interspecific pollen transfer for angiosperm evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 2019;50:191–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024804>.
- Moura RA, Wada CS, Purchio A, Almeida TV. Técnicas de laboratório. Rio de Janeiro, Atheneu. 1987; 511p.

- Muchhala N, Potts MD. Character displacement among bat-pollinated flowers of the genus *Burmeistera*: analysis of mechanism, process and pattern. *The Royal Society B: Biological Sciences*. 2007 b;274(1626):2731–2737. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0670>.
- Muchhala N. Functional significance of interspecific variation in *Burmeistera* flower morphology: evidence from nectar bat captures in Ecuador. *Biotropica*. 2008;40(3):332–337. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00381.x>.
- Muchhala N, Thomson J D. Going to great lengths: selection for long corolla tubes in an extremely specialized bat-flower mutualism. *The Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;276(1665):2147–2152. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0102>.
- Muchhala N, Thomson JD. Fur versus feathers: Pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *The American Naturalist*. 2010;175(6):717–726. <https://doi.org/10.1086/652473>.
- Natalis LC, Wesselingh RA. Shared pollinators and pollen transfer dynamics in two hybridizing species, *Rhinanthus minor* and *R. angustifolius*. *Oecologia*. 2012 a;170(3):709– 721. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2346-4>.
- Nepal S, Trunschke J, Ren ZX, Burgess KS, Wang H. Community-wide patterns in pollen and ovule production, their ratio (P/O), and other floral traits along an elevation gradient in southwestern China. *Plant Biology*. 2023;23(425). <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04433-2>.
- Oksanen J, Guillaume BF, Michael F, Roeland K, Legendre P, Dan M. *Vegan: Community Ecology Package*. 2019. (accessed in: 2023 dez 15). Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>.
- Ollerton J, Killich A, Larborn E, Watts S, Whiston M. Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon*. 2007;56:717–728. <https://doi.org/10.2307/25065856>.
- Palacios JAP, Soteras F, Cocucci AA. Mechanical fit between flower and pollinators in relation to realized precision and accuracy in the hummingbird pollinated *Dolichandra cynanchoides*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2019;126(4):655–665. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly219>.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar, D. R Core Team *Nlme: linear and nonlinear mixed effect models*. 2017. (accessed in: 2023 nov 15). Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Primo LM, Machado IC. A new case of late-acting self-incompatibility in *Capparis* L. (Brassicaceae): *C. jacobinae* Moric. Ex.Eichler, an endemic andromonoecious species of the Caatinga, Pernambuco State, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*. 2009;23(3). <https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000300016>.
- Quirino ZGM, Machado IC. Pollination syndromes in a Caatinga plant community in northeastern Brazil: seasonal availability of floral resources in different plant growth habits. *Brazilian Journal of Biology*. 2014;74(1):62–71. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.17212>.
- Queiroz JA, Quirino ZGM, Machado IC. Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. *AoB PLANTS*. 2015;10(7):plv127. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv127>.

Queiroz JA, Quirino ZGM, Lopes AV, Machado IC. Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*. 2016;125(2016):21–30. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.09.015>.

Queiroz LP, Cardoso D, Fernandes MF, Moro MF. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. In: Silva JMC, Leal IR, Tabarelli M (eds) *Caatinga-The Largest Tropical Dry Forest Region in South America*. Springer International Publishing. 2017:23–63. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68339-3>.

Queiroz JA, Diniz UM, Vázquez DP, Quirino ZM, Santos FAR, Mello MAR, Machado IC. Bats and hawkmoths form mixed modules with flowering plants in a nocturnal interaction network. *Biotropica*. 2020;53(2):596–607. <https://doi.org/10.1111/btp.12902>.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2021. (accessed in: 2023 nov 15). Available from: <https://www.R-project.org>.

Ramirez N, Sobrevila C, De Enrech NX, Ruiz-Zapata T (1984) Floral biology and breeding system of *Bauhinia benthamiana* taub. (leguminosae), a bat in Venezuelan “Llanos.” *American Journal of Botany*. 1984;71(2):273–280. <https://doi.org/10.2307/2443756>.

Rech AD, Agostini K, Oliveira PE, Machado IC. *Biologia da Polinização*. Editora Projeto Cultural, Rio de Janeiro. 2014; (1):171–178. [ISBN: 978-85-68126-01-1](https://doi.org/10.1007/978-85-68126-01-1).

Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, De Lima IP. *Morcegos do Brasil*. Technical Books Editora, Rio de Janeiro. 2007; (1). [ISBN: 9788561368319](https://doi.org/10.1007/978-85-61368-31-9).

Rocha EA, Machado IC, Zappi DC. Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in northeastern Brazil. *BioOne*. 2007; 2007(25):129–144. <https://doi.org/10.25223/brad.n.25.2007.a10>.

Rocha EA, Domingos-Melo A, Zappi DC, Machado IC. Reproductive biology of columnar cacti: are bats the only protagonists in the pollination of *Pilosocereus*, a typical chiropterophilous genus? *Folia Geobotânica*. 2020;54(3-4):239–256. <https://doi.org/10.1007/s12224-019-09357-0>.

SADMET/INMET - Seção de armazenamento de dados meteorológicos/Instituto de meteorologia. 2023. (accessed in: 2023 nov 15). Available from: http://www.inmet.gov.br/html/central_servicos/combo_produtos.html.

Sazima M, Buzato S, Sazima I. *Dyssochroa viridiflorum* (Solanaceae): a reproductively bat-dependent epiphyte from the Atlantic Rainforest in Brazil. *Annals of Botany*. 2003;92(5):725–730. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg/190>.

Sazima I, Sazima M. Solitary and group foraging: Two flower-visiting patterns of the lesser spear-nosed bat *Phyllostomus discolor*. *Biotropica*. 1977;9(3):213–215. <https://doi.org/10.2307/2387882>.

Silva JMC, Leal IR, Tabarelli M. *Caatinga: The largest Tropical Dry Forest Region in South America*. 1. ed. Springer International Publishing. 2017; (1), 487 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68339-3>.

Silva SSP, Perachi AL. Visits of bats to flowers of *Lafouensia glyptocarpa* Koehne (Lytraceae). *Revista Brasileira de Biologia*. 1999;59(1):19–22. <https://doi.org/10.1590/S003471081999000100003>.

Silva JLS, Cruz-Neto O, Rito KF, Arnan X, Leal IR, Peres CA, Tabarelli M, Lopes AV. Divergent responses of plant reproductive strategies to chronic anthropogenic disturbance and aridity in the Caatinga dry forest. *Science of the Total Environment*. 2020;704(135240). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135240>.

Spencer V, Kin M. Re“CYC” ling molecular regulators in the evolution and development of flower symmetry. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2018;79:16–26. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.08.052>.

Spira TP. Floral parameters, breeding system and pollinator type in *Trichostema* (Labiatae). *American Journal of Botany*. 1980;67(3):278–284. <https://doi.org/10.2307/2442337>.

Stewart AB, Dudash MR. Differential pollen placement on an OldWorld nectar bat increases pollination efficiency. *Annals of Botany*. 2015;117(1):145–152. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv163>.

Stewart AB, Dudash MR. Flower-visiting bat species contribute unequally towards agricultural pollination ecosystem services in southern Thailand. *Biotropica*. 2016 a;49(2):239–248. <https://doi.org/10.1111/btp.12401>.

Stewart AB, Dudash MR. Field evidence of strong differential pollen placement by Old World bat pollinated plants. *Annals of Botany*. 2016 b;119(1):73–79. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw212>.

Streher NS, Bergamo PJ, Ashman TL, Wolowski M, Sazima, M. Effect of heterospecific pollen deposition on pollen tube growth depends on the phylogenetic relatedness between donor and recipient. *AoB Plants*. 2020;12(4):plaa016. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plaa016>.

Sudene - Superintendência do desenvolvimento do Nordeste (1990) Dados pluviométricos mensais do Nordeste. Recife, Pernambuco. (accessed in: 2021 ago 05). Available from: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta>.

Thomson JD. Skewed flowering distributions and pollinator attraction. *Ecology*. 1980;61(3):572-579. <https://doi.org/10.2307/1937423>.

Tschapka M, Dressler S. Chiropterophily: on bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine, Jardim Botânico Real*. 2002;19(2):114–125. <https://doi.org/10.1111/14678748.00340>.

Tschapka M, Gonzalez-Terrazas TP, Knörnschild M. Nectar uptake in bats using a pumping-tongue mechanism. *Science advances*. 2015;1(8):e1500525. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500525>.

Vanderlei RS, Barros MF, Domingos-Melo A, Alves GD, Silva AD, Tabarelli M. Extensive clonal propagation and resprouting drive the regeneration of a Brazilian dry forest. *Journal of Tropical Ecology*. 2021;37(1):35–42. <https://doi.org/10.1017/S0266467421000079>.

Vogel S, Machado IC, Lopes AV. *Harpochilus neesianus* and other novel cases of chiropterophily in neotropical Acanthaceae. *Taxon*. 2004;53(1):55. <https://doi.org/10.2307/4135488>.

Vogel S, Lopes AV, Machado IC. Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii*: an unusual case and first report for the genus. *Táxon*. 2005;54(3):693–700. <https://doi.org/10.2307/25065426>.

Von Helversen O. Adaptations of flowers to the pollination by Glossophagine bats In: Barthlott W, Naumann CM, Schmidt-Loske K, Schuchmann KL (eds.) *Animal-plant Interactions in Tropical Environments*. Bonn: Museum Alexander König. 1993:41–59.

Webb CJ, Lloyd D. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*. 1986;24(1):163-178. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1986.10409726>.

Winter W, Helversen OV. Operational tongue length in Phyllostomid nectar-feeding bats. *Journal of Mammalogy*. 2003;84(3):886–896. <https://doi.org/10.1644/BWG-032>.

TABLES

Table 1 - Pollen placement strategies and floral morphological attributes of the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil.

	Flowering period	Bats body part	Pollen placement	Floral type	Symmetry	Symmetry	Hercogamy	Visit direction
	(Monthly records during the data collection supplemented with herbaria information from SpeciesLink.)	(h-head; f-face; n-neck; c-chest; b-belly; s-shoulder to back; w-wings; u-uropatagium)	(sensu Minnaar et al. 2019)	(sensu Faegri & Pijl 1979)	Vegetative whorl	Reproductive whorl	(sensu Webb & Lloyd 1986)	(Sternotribic; Nototribic; Frontal; All)
Acanthaceae								
<i>Harpochilus neesianus</i> Mart. ex Nees	Throughout the year with a peak in October.	s;u	Stamp	Gullet	Asymmetric	Zygomorphic	Approach	Nototribic
Bromeliaceae								
<i>Dickia spectabile</i> Mart. ex Schult. & Schult F.	August to November with a peak in September.	h;f;n	Stroke	Pseudo-brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	Frontal
Cactaceae								
<i>Pilosocereus catimbauensis</i> N.P.Taylor & Albuquerque Lima	January to March with a peak in February.	F	Stamp	Campanulate	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Frontal
<i>Pilosocereus catingicola</i> (Gürke) Byles & Rowley	August to November with a peak in September.	h;f;n	Stamp	Campanulate	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Nototribic
<i>Pilosocereus pachycladus</i> F.Ritter	February to May with a peak in April.	F	Stamp	Campanulate	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Frontal
<i>Xiquexique gounellei</i> (F.A.C.Weber) Lavour & Calvente	February to May with a peak in April.	F	Stamp	Tube	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Frontal
<i>Xiquexique tuberculatus</i> (Werderm.) Lavour & Calvente	Throughout the year with a peak from October to January.	F	Stamp	Tube	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Frontal
Capparaceae								
<i>Cynophalla flexuosa</i> (L.) J.Presl	October to March with a peak in flowering between November and December.	h;f;n;c	Diffuse	Brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	All
<i>Neocalyptocalyx longifolium</i> (Mart.) Cornejo & Iltis	September to February with a peak in flowering	h;f;n;c	Diffuse	Brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Reverse	All

	between October and November.								
Cleomaceae									
<i>Tarenaya longicarpa</i> Soares Neto & Roalson	Throughout the year with a peak from August to October.	c;b;w	Diffuse	Flag	Zygomorphic	Actinomorphic	Absent	Sternotribic	
Convolvulaceae									
<i>Ipomoea vespertilia</i> D. Santos, G.C. Delgado-Junior & Buriel	July to September with a peak in August.	n;c	Stroke	Infundibuliform	Actinomorphic	Zygomorphic	Approach	Sternotribic	
Fabaceae									
<i>Bauhinia acuruana</i> Moric.	January to April with a peak in February and June to October with a peak in August.	n;c	Stroke	Flag	Asymmetric	Zygomorphic	Approach	Sternotribic	
<i>Bauhinia pentandra</i> (Bong.) D.Dietr.	Throughout the year with a peak between November and February.	c;b	Stroke	Flag	Asymmetric	Zygomorphic	Approach	Sternotribic	
<i>Calliandra aeschynomenoides</i> Benth.	June to September with a peak in July.	h;n;c	Diffuse	Pseudo-brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	All	
<i>Hymenaea cangaceira</i> R.B.Pinto, Mansano & A.M.G.Azevedo	December to February with a peak in January.	n;c	Diffuse	Dish	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	All	
<i>Mimosa lewisii</i> Barneby	Throughout the year with a peak from June to July.	n;c	Stroke	Pseudo-brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	Sternotribic	
Lythraceae									
<i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne	June to September with a peak in July.	c;b;w	Diffuse	Dish	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	Sternotribic	
Malvaceae									
<i>Ceiba glaziovii</i> (Kuntze) K.Schum.	July to September with a peak in August.	h;f;n;c	Stroke	Dish	Actinomorphic	Zygomorphic	Approach	Frontal	
<i>Helicteres baruensis</i> Jac.	July to September with a peak in August.	B	Stroke	Flag	Zygomorphic	Zygomorphic	Absent	Sternotribic	
<i>Pseudobombax marginatum</i> (A.St.-Hil., Juss. & Cambess.) A.Robyns	June to September with a peak in July.	h;f;n;c;b;s;w	Diffuse	Brush	Actinomorphic	Actinomorphic	Absent	All	

Table 2 – Pollination inaccuracy statistics of a sample from the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil. (Ordered from lowest to highest inaccuracy index).

	N (flowr/id)	Departure from optimum*	%TI	Trait imprecision (male function - OD)				Optimum (female function - OD)				Raw inaccuracy	Mean ² - scaled Inaccuracy
				Mean	Variance	CV	%TI	Mean	Variance	CV	%TI		
<i>Harpochilus neesianus</i>	30/15	7.02	21.64	58.80	66.22	13.84	29.12	65.80	111.98	16.08	49.20	227.42	0.066
<i>Encholirium spectabile</i>	30/21	2.92	8.07	18.70	34.88	31.52	32.92	21.70	62.52	36.50	59.00	105.95	0.303
<i>Pilosocereus pachycladus</i>	36/36	0.39	0.30	27.50	16.53	14.79	32.50	27.10	34.18	21.58	67.20	50.86	0.067
<i>Xiquexique tuberculatus</i>	30/15	6.25	23.57	33.00	48.27	21.06	29.12	26.70	78.41	33.12	47.30	165.75	0.152
<i>Neocalyptrocalyx longifolium</i>	41/12	13.36	60.44	22.80	9.71	13.64	3.28	9.50	107.23	109.19	36.30	295.56	0.569
<i>Tarenaya longicarpa</i>	30/15	6.94	9.02	37.20	91.04	25.65	17.03	44.10	395.41	45.05	74.00	534.66	0.386
<i>Bauhinia acuruana</i>	20/13	8.91	46.69	25.10	19.64	17.65	11.54	34.00	71.11	24.78	41.80	170.23	0.270
<i>Bauhinia pentandra</i>	30/17	11.16	47.83	32.90	48.77	21.22	18.73	44.10	87.04	21.17	33.40	260.34	0.241
<i>Calliandra aeschynomoides</i>	30/17	3.21	45.11	13.20	5.62	17.90	24.64	16.40	6.90	15.97	30.30	22.81	0.131
<i>Hymenaea cangaceira</i>	30/15	9.01	72.55	27.80	10.14	11.45	9.06	36.80	20.60	12.33	18.40	111.97	0.145
<i>Mimosa lewisii</i>	30/15	0.37	2.38	7.40	0.73	11.63	13.04	7.00	4.76	31.17	84.60	5.63	0.103

Table 3 – Pollen and ovule production of a sample from the guild of bat-pollinated plant species from PARNA Catimbau, Northeast Brazil.

	N (Bud/Ant.)	Anther per flower	Pollen per anther	Total pollen per flower	Ovules	P/O Ratio
Acanthaceae						
<i>Harpochilus neesianus</i>	10/2	2	13688±6267	27375±12534	4	6844±3133
Bromeliaceae						
<i>Encholirium spectabile</i>	10/2	6	364500±13317 8	2187000±799067	263±74	8685±2699
Cactaceae						
<i>Pilosocereus catibauensis</i>	5/10	615±11	9833±2009	6051250±1394336	2050±28	1771±1685
<i>Xiquexique tuberculatus</i>	10/10	888±7	13763±3302	12225650±2970933	2617±17	4669±1119
Capparaceae						
<i>Cynophalla flexuosa</i>	10/15	66±1	18742±1904	1236642±123379	81±1	15327±1554
<i>Neocalyptrocalyx longifolium</i>	10/15	47	40442±1393	1892817±71797	38±1	50084±1989
Cleomaceae						
<i>Tarenaya longicarpa</i>	10/3	6	208375±7968	1250250±47805	168±1	7459±271
Convolvulaceae						
<i>Ipomoea vespertilia</i>	10/5	5	1734±29	8669±147	4	2167±37
Fabaceae						
<i>Bauhinia acuruana</i>	10/4	10	2858±1277	28584±12772	16±6	1877±847
<i>Bauhinia pentandra</i>	10/4	10	2723±404	27228±4039	19±1	1481±267
<i>Calliandra aeschynomenoides</i>	10/5	19	4902±220	93138±4179	18±1	5174±232
<i>Hymenaea cangaceira</i>	10/4	10	38625±10541	386250±105411	12±2	33671±10379
<i>Mimosa lewisii</i>	10/3	8	335250±4069	2682000±32554	10±1	283126±16564
Malvaceae						
<i>Ceiba glaziovii</i>	10/2	5	165438±50178	827188±250888	196±18	4301±1494

FIGURE CAPTIONS

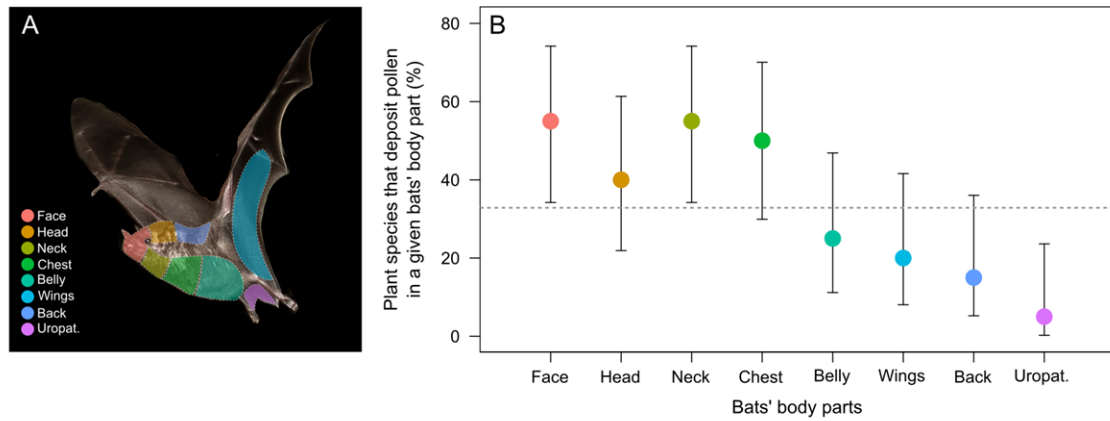


Figure 1 – Illustration of the eight divisions of the bat's body utilized for assessing contact with floral reproductive structures (A). Dot plot depicting the proportion of plants within the chiropterophilous guild whose reproductive floral structures make contact with each specific body part of bats (whiskers denote the 95% confidence interval; dotted line denotes the proportion expected) (B).

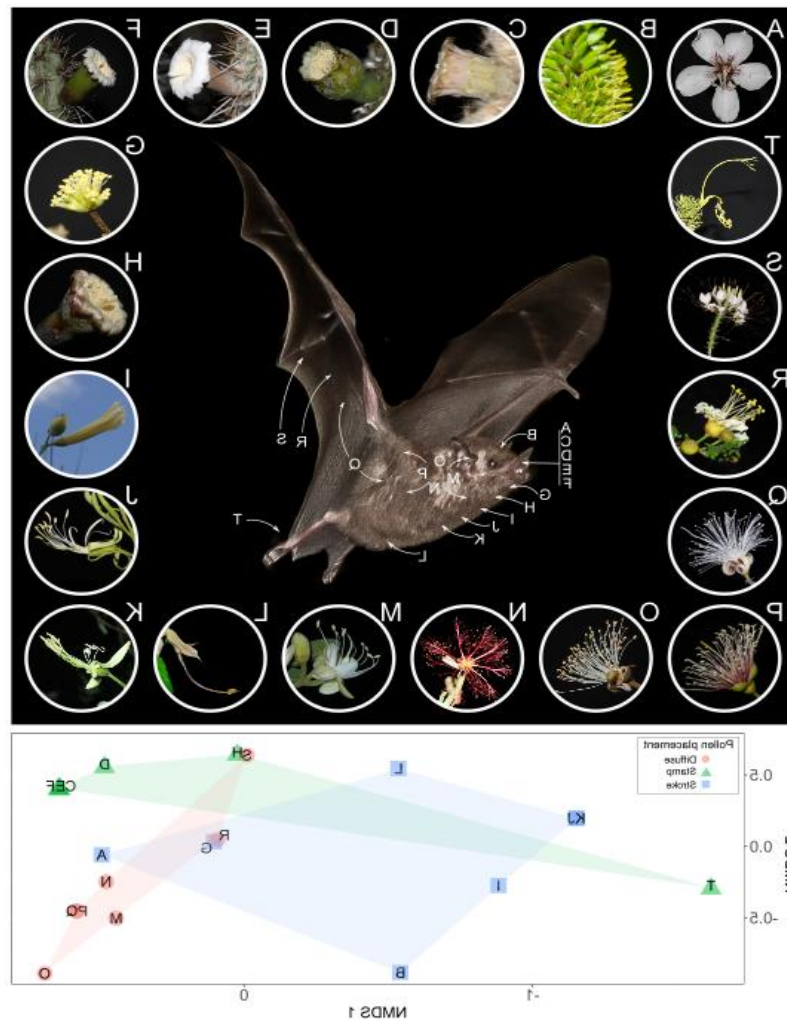


Figure 2 – Contact directions with bodies of pollinating bats generated by different floral morphologies of plants from chiropterophilous guild in PARNA Catimbau, Northeast Brazil. (Upper) Directions of approach (white arrows) of the reproductive structures of the flowers on the bodies of nectar-feeding bats during the floral visit, here exemplified in the *Glossophaga soricina* bat from the Glossophaginae-Phyllostomidae as an example. The labeled plant species include (ordered by the proximity of contact of structures on the bats' body): (A) *Encholirium spectabile*, (B) *Ceiba glaziovii*, (C) *Pilosocereus catimbauensis*, (D) *Pilosocereus pachycladus*, (E) *Xique-xique gounellei*, (F) *Xique-xique tuberculatus*, (G) *Mimosa lewisii*, (H) *Pilosocereus catingicola*, (I) *Ipomoea vespertilia*, (J) *Bauhinia acuruana*, (K) *B. pentandra*, (L) *Helicteres baruensis*, (M) *Hymenaea cangaceira*, (N) *Calliandra aeschynomeneoides*, (O) *Neocalyptrocalyx longifolium*, (P) *Cynophalla flexuosa*, (Q) *Pseudobombax marginatum*, *Lafoensia glyptocarpa*, (S) *Tarenaya longicarpa*, (T) *Harpochilus neesianus*. (Botton) NMDS analysis (stress = 0.017) comparing different pollen deposition strategies based on floral morphological attributes.

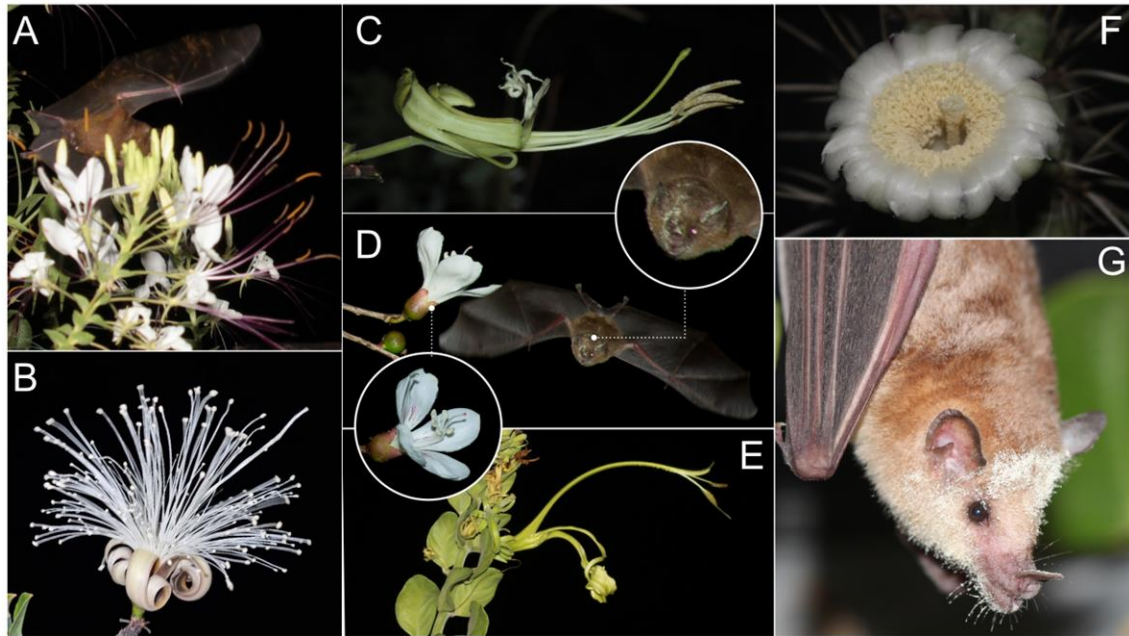


Figure 3 – Examples of pollen placement strategies observed among chiropterophilous flowers and their pollinating bats. (A) *Tarenaya longicarpa* (Cleomaceae) flowers, with distinct yellow pollen marks are evident diffuse pollen placement on the wings of the *Glossophaga soricina* bat; (B) *Pseudobombax marginatum* (Malvaceae) have big brush type flowers promoting diffuse pollen placement into bats. (C) Flowers as *Bauhinia pentandra* (Fabaceae) and (D) *Ceiba gaziovii* (Malvaceae) deposit pollen through unidirectional strokes, respectively in sternotribic and frontal directions. (E) Flowers of *Harpochilus neesianus* (Acanthaceae) and (F) *Xiquexique tuberculatus* (Cactaceae) employ a stamp-like mechanism, depositing pollen on the bats' bodies, respectively on the uropatagium and facial regions, (G) *Xique-xique tuberculatus* pollen on the bat's face.

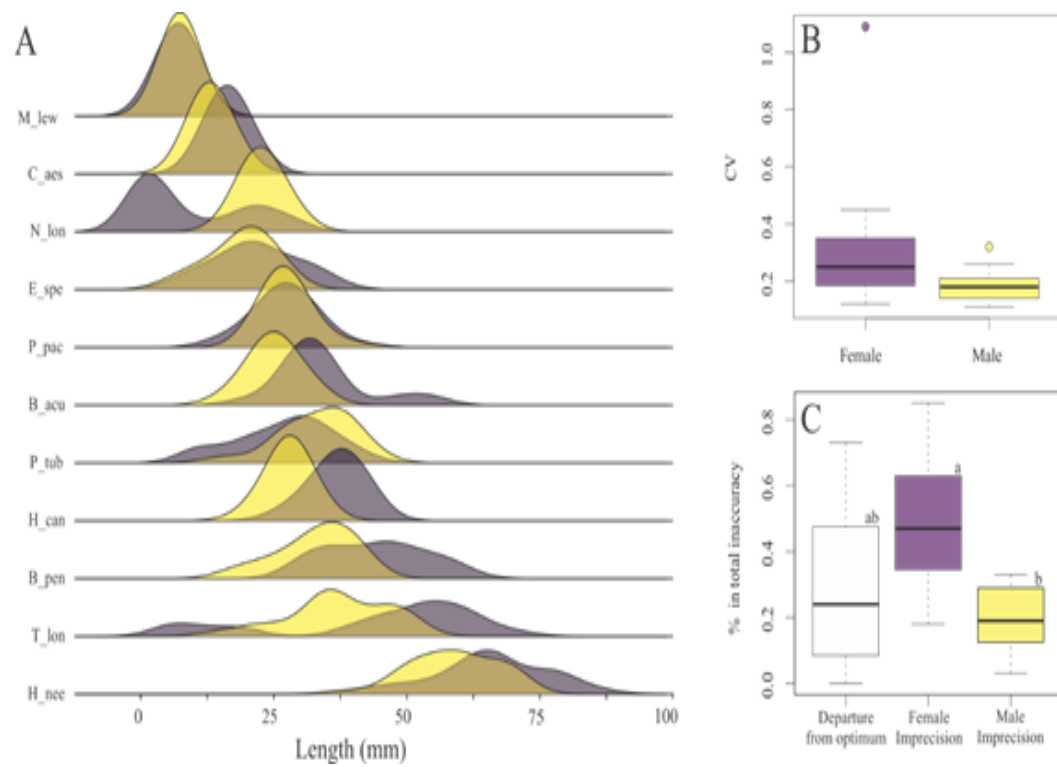


Figura 4. Probabilistic density of floral phenotypes of chiropterophilous species that occur in the Catimbau National Park, Buíque/PE. Caatinga dry forest area, Northeast Brazil. (A) Ridgeline plot; (B) Boxplot Coefficient of variation; (C) % contribution to inaccuracy.

4. MANUSCRITO 2: EFEITO DA DEPOSIÇÃO DIFERENCIAL DE PÓLEN NA REPRODUÇÃO DE DUAS ESPÉCIES QUIROPTERÓFILAS DE *BAUHINIA* (FABACEAE) EM UMA FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA

Manuscrito a ser submetido ao periódico

Organisms Diversity & Evolution

Efeito da deposição diferencial de pólen na reprodução de duas espécies quiropterófilas de Bauhinia (Fabaceae) em uma floresta tropical sazonalmente seca

CRISTINA ADRIANE DE SOUZA PONTES¹, ARTHUR DOMINGOS-MELO^{2*} & ISABEL CRISTINA MACHADO¹

¹*Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil*

²*Laboratório de Biologia Floral e Ecologia da Polinização, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe - Campus Prof. Alberto Carvalho, Itabaiana – SE, 49506-036, Brasil.*

* Autor para correspondência: E-mail: arthur.dom@academico.ufs.br

ORCID

0000-0002-7390-2983 (Pontes, C. A. S.)

0000-0001-6279-5142 (Domingos-Melo, A.)

0000-0001-5015-2393 (Machado, I. C.)

RESUMO: A reprodução sexuada nas plantas depende da eficiente transferência de pólen para o estigma, um processo crítico para o sucesso reprodutivo. A competição por recursos entre espécies que compartilham os mesmos polinizadores pode resultar na deposição de pólen interespecífico, afetando a aptidão reprodutiva e a perpetuação das espécies. Neste estudo investigamos a tolerância ao bloqueio mecânico do estigma em duas espécies simpátricas de *Bauhinia* (*B. acuruana* e *B. pentandra*), cujas flores compartilham características morfológicas florais e morcegos polinizadores. Para isso, conduzimos experimentos de bloqueio mecânico do estigma em campo; analisamos, a deposição de pólen nos estigmas das flores; a média do comprimento das estruturas reprodutivas; e a formação de frutos e sementes através de experimentos de polinização. Os resultados mostraram que o bloqueio mecânico dos estigmas afetou negativamente a reprodução das espécies, com *B. acuruana* demonstrando maior tolerância do que *B. pentandra*. O fluxo de pólen entre as espécies é assimétrico, no qual, *B. acuruana* recebe mais pólen de *B. pentandra* do que o inverso. As espécies reduzem a deposição de pólen interespecífico ao evitar a sobreposição morfológica através da divergência de caracteres. Além disso, utilizam uma estratégia, na qual, forçam o vetor a arrastar uma parte de seu corpo pelas anteras em uma direção consistente deixando uma faixa de pólen, denominada de deposição “do traço”. Dessa forma, conseguem reduzir a concorrência e consequentemente, evitar a interferência polínica. Nossos resultados destacam a importância das estratégias de isolamento reprodutivo para as plantas, especialmente quando compartilham polinizadores com espécies vizinhas. Entender como as plantas respondem à interferência polínica e ao bloqueio mecânico do estigma é fundamental para a conservação da biodiversidade e a compreensão das adaptações florais. Nossos achados sugerem que diferentes espécies podem demonstrar níveis variados de tolerância a esses desafios, o que pode influenciar sua aptidão reprodutiva e dinâmicas populacionais.

Palavras-chave: bloqueio mecânico do estigma; fluxo de pólen interespecífico; interferência polínica; polinização por morcegos; seleção sexual masculina; sucesso reprodutivo.

4.1. INTRODUÇÃO

O sucesso na transferência de pólen é essencial para reprodução das plantas, de forma que a evolução das flores se deu no sentido de otimizar a deposição de pólen no corpo do animal polinizador e a sua recepção pelo estigma (Baranzelli et al., 2024; Brito et al., 2010; Alves-dos-Santos et al., 2016). No entanto, se diferentes espécies partilham polinizadores em comum, essa interação pode resultar em competição, ocasionando inclusive, o recebimento de pólen interespecífico. Isto pode causar o bloqueio da superfície estigmática reduzindo a aptidão feminina e impedindo a fixação do pólen intraespecífico, ou interferir na germinação do pólen e no crescimento do tubo polínico (Briggs et al., 2016; Minnaar et al., 2019a; Streher et al., 2020). Entre espécies filogeneticamente próximas, pode ainda haver a fertilização de óvulos a partir de pólen interespecífico resultando na formação de híbridos (Wendt et al., 2008; Arceo-Gómez & Ashman, 2011; Albuquerque et al., 2024). Além disso, o bloqueio da superfície estigmática com pólen interespecífico pode promover a interferência polínica, que é o efeito negativo que o pólen de uma espécie pode causar no sucesso reprodutivo de outra espécie (Waser, 1983; Kyogoku, 2015; Borges et al., 2016; Moreira-Hernández & Muchhala, 2019).

Espécies vegetais simpátricas podem partilhar polinizadores e isso pode resultar na deposição de pólen interespecífico. No entanto, algumas espécies evitam a sobreposição fenológica com espécies simpátricas ao florescer em diferentes momentos do dia (ou noite) ou do ano (Zhang et al., 2016; Paudel et al., 2018). Outras espécies evitam a partilha de polinizadores ao desenvolver atributos de sinalização nas flores (cores, formas, perfumes) para atrair polinizadores específicos (Muchhala & Thomson, 2010; Minnaar et al., 2019a). Outras ainda evitam a sobreposição de pólen no corpo do animal ao selecionar diferentes partes do corpo para deposição e remoção de pólen (Armbruster et al., 1994; Muchhala & Potts, 2007; Muchhala & Thomson, 2012; Queiroz et al., 2016; Minnaar et al., 2019a). Estudos mostram que essa estratégia tem reduzido o fluxo de pólen entre espécies intimamente relacionadas (Muchhala, 2008; Queiroz et al., 2015), podendo atuar como barreira reprodutiva pré-polinização das espécies (Albuquerque-Lima et al., 2023d). As barreiras reprodutivas são importantes para manter o isolamento entre as espécies, e a divergência de caracteres tem se apresentado como um importante instrumento para evitar a perda de pólen para estigmas interespecíficos (Muchhala & Potts, 2007; Albuquerque-Lima et al., 2023d). Contudo, essas diferenças de caracteres podem refletir estratégias complexas para lidar com a disputa da função masculina das flores.

Muitas espécies têm como estratégia de deposição de pólen forçar o vetor a arrastar uma parte de seu corpo pelas anteras em uma direção consistente, deixando uma faixa de pólen. Essa estratégia chamada de deposição “do traço”, que está geralmente associada a flores cujas plantas têm maior controle sobre a posição relativa do corpo e a direção de aproximação dos vetores de pólen (Minnaar et al., 2019a). Nesses casos é muito comum observarmos nessas flores uma hercogamia orientada com aproximação direcionada, o que significa que há uma separação espacial entre estruturas masculinas e femininas dentro da flor, com o polinizador tocando primeiramente o estigma antes das anteras durante a sua aproximação (Webb & Lloyd, 1986). Dentre as diversas consequências que essa estratégia de ajuste mecânico possibilita, está seu alto potencial para que ocorra a competição por posicionamento de pólen em uma mesma área do corpo do polinizador através de três processos: i) deslocamento do pólen rival por empurrão; ii) remoção do pólen rival por raspagem; iii) cobertura do pólen rival ao depositar uma nova carga de pólen (Minnaar et al., 2019a). À medida que esses três eventos ocorrem simultaneamente entre as flores, acreditamos que seja razoável esperar que flores com estruturas reprodutivas mais longas levem vantagem sobre as mais curtas através de dois processos: i) à medida que a deposição de pólen cobre uma maior área do corpo do polinizador, é possível que flores maiores escapem parcialmente da competição em relação às flores menores; ii) à medida que ocorre uma nova deposição de pólen na área de deposição de flores menores é possível suprimi-las.

O sistema de polinização por morcegos surge como um bom modelo para se investigar esses processos de interferência polínica e competição por posicionamento de pólen, devido à alta diversidade morfológica das flores das espécies com esse sistema (Fleming et al., 2009; Boero et al., 2022). Essas plantas exibem desde flores com vários estames e deposição de pólen difusa no corpo do animal, até flores com poucos ou numerosos estames que depositam o pólen numa região específica do corpo do polinizador (Muchhala & Thomson, 2012). Contudo, apesar de serem altamente especializados para o consumo de néctar floral, os morcegos são polinizadores generalistas ecológicos em termos das plantas que visitam. Isto ocorre porque eles visitam várias espécies de plantas por noite para suprir seu gasto energético (Reis et al., 2007; Simon et al., 2019), possuem área corpórea extensa, que permite a exploração de diferentes locais de deposição de pólen, e possuem pelos que aderem mais facilmente o pólen do que outras superfícies de animais (Muchhala & Thomson, 2010). Assim, os morcegos são considerados importantes polinizadores de várias famílias de plantas (Borges et al., 2016; Locatelli et al., 1997; Machado & Vogel, 2004; Vogel et al., 2004,

2005; Rocha et al., 2007; Queiroz et al., 2015, 2016; Albuquerque-Lima et al., 2023a, b, c, d; Domingos-Melo et al., 2023).

Neste trabalho, utilizamos um par de espécies quiropterófilas e sincronopátricas do gênero *Bauhinia* (Fabaceae) como modelo de estudo para investigar o efeito do bloqueio mecânico dos grãos de pólen através do entupimento da superfície estigmática das flores, visando determinar se, e como ocorre a transferência de pólen interespecífica entre elas no ambiente natural. Estas espécies foram escolhidas com base em uma análise das espécies quiropterófilas presentes na área de estudo (Domingos-Melo et al., 2023), tendo como principal critério de seleção o fato de que as flores das duas espécies são muito semelhantes em termos morfológicos e partilham os mesmos polinizadores, além de apresentarem sobreposição da floração (Albuquerque-Lima et al., 2023d). Nossa abordagem envolveu duas etapas: i) quantificar o fluxo de pólen intra e interespecífico de cada uma das espécies através da análise da superfície estigmática, e ii) realizar uma série de experimentos de polinização controlada em campo com as duas espécies, a fim de mensurar o efeito de diferentes níveis de bloqueio mecânico no estigma. De forma geral, nós hipotetizamos que as espécies que possuem estiletos menores estão mais aptas a suportar a presença de pólen interespecífico em relação à sua congênere, uma vez que as mesmas, experimentam um efeito maior no recebimento de pólen.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Local de estudo

O trabalho de campo foi realizado no Parque Nacional do Catimbau (PARNA Catimbau), localizado no município de Buíque, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. O Parque abrange aproximadamente 64.000 ha (8°36'25" S 37°09' 30" W), apresenta clima semiárido quente (BSh segundo a escala de Köppen, Peel et al., 2007). A temperatura média anual é de 25 °C, com precipitação média anual de 700 mm. A estação seca dura entre seis e oito meses (agosto-fevereiro), sendo novembro o mês mais seco, e a estação chuvosa se concentra nos meses de março a julho, sendo maio o mês com maior índice pluviométrico (SADMET/INMET, 2023; Sudene, 1990). O Parque é constituído por rochas areníticas e um mosaico de vegetação formado principalmente por Caatinga arbustiva, semidecídua e xerofítica (Andrade et al., 2004), que inclui espécies de Leguminosae, Euphorbiaceae, Asteraceae e Convolvulaceae, enquanto as plantas herbáceas do sub-bosque são principalmente espécies das famílias Cactaceae e Bromeliaceae (Athiê-Souza et al., 2019).

4.2.2. Espécies e populações estudadas

A família Fabaceae apresenta ampla distribuição, com elevada representatividade na Caatinga (Córdula et al., 2014; Serafim-Filho et al., 2021), possuindo vários hábitos, que vão desde ervas minúsculas até árvores de grande porte (Gentry, 1988). Alguns gêneros da família têm sido citados por vários autores como sendo polinizadas por morcegos (Machado & Lopes, 2004; Vogel et al., 2005; Cruz-Neto et al., 2015; Diniz et al., 2019; Domingos-Melo et al., 2020, 2023). O gênero *Bauhinia* L. (Leguminosae – Cercidoideae) possui uma grande diversidade de polinizadores e suas flores apresentam diferentes formas, tamanhos, colorações, bem como durações de antese (Endress, 1994).

As espécies estudadas *Bauhinia acuruana* Moric. e *B. pentandra* (Bong.) Vogel ex Steud. são filogeneticamente próximas, morfologicamente similares, possuem o mesmo período de floração (Albuquerque-Lima et al., 2023d), e compartilham morcegos como polinizadores (Albuquerque-Lima et al., 2023d). Suas flores possuem simetria zigomorfa e uma pequena estrutura tubular onde é armazenado o néctar. Os verticilos vegetativos são voltados para cima, atuando como um estandarte que direciona a visita do polinizador, enquanto as estruturas reprodutivas estão voltadas para baixo (Pontes et al., 2024). As pétalas são assimétricas, brancas, e livres entre si. As anteras das duas espécies depositam o pólen na região ventral dos morcegos (Albuquerque-Lima et al., 2023d), promovendo um ajuste morfológico com o polinizador. Além disso, exibem separação espacial entre as anteras e o estigma, e cada espécie possui dez estames que se projetam para fora da corola tubular, de modo que, a transferência de pólen ocorre fora do tubo.

Essas duas espécies de *Bauhinia* ocorrem no Cerrado e principalmente na Caatinga (Vaz e Tozzi, 2003, 2005). *Bauhinia acuruana* está distribuída nas altitudes de 600 a 1100 m, enquanto *B. pentandra* está geralmente associada a áreas mais baixas entre 300 e 700 m (Vaz, 2001). As espécies foram amostradas em três diferentes áreas do PARNA Catimbau, conhecidas localmente como Serrinha, Pedra do Padre e Vila do Catimbau. Escolhemos plantas com muitas flores e botões, para garantir a realização dos experimentos de polinização. Foram marcados 20 indivíduos de cada espécie, distantes entre si cerca de dez metros para garantir que não se tratava da mesma planta.

4.2.3. Mapeamento do fluxo de pólen interespecífico

Para entender o resultado da polinização natural e conhecer a quantidade de pólen heteroespecífico que é depositado naturalmente nas espécies, analisamos os grãos depositados nos estigmas das duas espécies em ambiente natural. Os estigmas foram coletados ao acaso em diferentes

indivíduos antes da senescência floral (entre as 4:30h e 5:30h da manhã). Coletamos 165 estigmas de *Bauhinia acuruana* e 153 de *B. pentandra* durante 30 dias consecutivos no período de março de 2022 (período no qual as espécies floresceram no ano estudado). Os estiletes foram retirados cuidadosamente dos indivíduos com o auxílio de uma pinça, para evitar o risco de contaminação com o pólen da própria planta. Em seguida, foram colocados individualmente em tubos Eppendorf contendo álcool 70% para processamento em laboratório. Cada tubo recebeu anotação com o nome da espécie, indivíduo e data da coleta. Para posterior identificação dos grãos, confeccionamos lâminas com pólen das anteras de cada espécie para servir de referência utilizando o mesmo método de identificação. Os estigmas foram submetidos ao processo de acetólise realizado diretamente na lâmina, de acordo com o protocolo proposto por Erdtman (1960), usando 9:1 de anidrido acético e ácido sulfúrico. Cada estilete foi colocado individualmente em uma lâmina sobre uma placa aquecedora com temperatura de 80°C. Em seguida, foram adicionadas 2 gotas da mistura de acetólise sobre o material polínico, cobertas com a lamínula e vedadas com esmalte incolor. Para cada amostra, todos os grãos de pólen foram contados sob microscópio óptico, sendo possível identificar os grãos de pólen intra e interespecíficos.

4.2.4. Nível de tolerância de pólen interespecífico

Para avaliar como o bloqueio da superfície estigmática pode afetar a formação de frutos e sementes, medimos indiretamente o efeito mecânico dos grãos de pólen na superfície estigmática das flores. Para isso, utilizamos microesferas de vidro (material inerte, sem alterações químicas) de tamanho análogo aos grãos de pólen, em dois diferentes tratamentos: Tratamento 1: 75% de pólen coespecífico e 25% de pólen heteroespecífico, e tratamento 2: 50% de pólen coespecífico e 50% de pólen heteroespecífico, de acordo com a metodologia de Moreira-Hernández et al. (2019). As microesferas de vidro foram previamente colocadas em um recipiente contendo álcool 70% por 30 minutos para excluir a presença de possíveis microorganismos e, posteriormente, foram colocadas sobre um filtro de papel para secagem em condições ambiente. Após a secagem das microesferas, utilizamos tubos Eppendorf de 2ml para medir a quantidade exata do material a ser utilizado em cada tratamento.

No ambiente natural, para cada espécie, selecionamos uma planta como doadora de pólen intraespecífico. O critério de escolha foi que essa planta estivesse a pelo menos 5 km da população onde encontravam-se as plantas a serem utilizadas como receptoras de pólen. A planta doadora foi devidamente etiquetada para se diferenciar das demais. Retiramos os grãos de pólen das anteras das

flores desse indivíduo com o auxílio de agulhas de microseringas (que foram previamente esterilizadas com álcool 70%) para adicionar à porcentagem de microesferas de vidro utilizada em cada tratamento. Seleccionamos em campo vinte indivíduos que seriam receptores dos grãos de pólen. Para a deposição de pólen, utilizamos um pincel de cerdas macias nos diferentes tratamentos de polinização. Utilizamos até três flores de cada planta, as quais, tiveram seus estigmas totalmente preenchidos com alguma das diferentes misturas de pólen e microesferas, as quais foram então cobertas com sacos de voal até o dia seguinte. Para cada tratamento, as flores foram previamente marcadas com fitas de cores diferentes para posterior identificação em campo.

Para conhecer a capacidade máxima de reprodução das espécies, realizamos um experimento de polinização cruzada manual, na qual, adicionamos pólen de anteras de três indivíduos coespecíficos nos estigmas das flores (N=45). Em seguida, cobrimos com sacos de voal até o dia seguinte para evitar a visita de vetores. Para verificar o número de frutos formados através da habilidade do polinizador no ambiente natural, observamos a formação de frutos em flores (N=90) de diferentes indivíduos. Em ambos os casos, as flores expostas foram previamente marcadas com fitas coloridas para diferenciar dos demais tratamentos de polinização, as quais foram observadas até a formação ou não de frutos. Os frutos maduros, quando formados, foram coletados após cinco semanas. Tanto o nível de tolerância de pólen interespecífico das espécies, quanto os tratamentos de polinização cruzada e polinização natural foram verificados através do acompanhamento da média de formação de frutos (em termos de frequência) e média de sementes formadas em cada espécie.

4.2.5. Morfometria

Para investigar se as espécies evitam a sobreposição de pólen no corpo do polinizador a partir de suas diferentes morfometrias, medimos a distância operacional das estruturas reprodutivas de cada espécie. Para cada espécie, após a abertura floral, foram coletadas flores (N=30) de diferentes indivíduos. Em seguida, foram medidas as dimensões dos estames (da base até o centro das anteras) e estiletes (base até o centro dos estigmas). As medidas foram realizadas em campo, com o auxílio de um paquímetro digital Mitutoyo Digimatic SR44. Posteriormente, a média do comprimento das estruturas reprodutivas foi obtida através de um teste de Qui-quadrado.

4.2.6. Análises estatísticas

Nós utilizamos Modelos Lineares Generalizados para analisar os dados coletados. Para o conteúdo estigmático, as variáveis explicativas foram tipo de pólen depositado (intra ou

interespecífico) e a espécie (uma das duas do par de espécies de *Bauhinia*). De forma semelhante, para a produção de frutos e sementes, consideramos o tratamento e as espécies como variáveis explicativas. Para lidar com a presença de excesso de zeros nos dados, foi aplicado um modelo estatístico zero-inflado. Este modelo diferencia a presença ou ausência de pólen heteroespecífico (modelo binomial) e a contagem da quantidade de pólen (modelo Poisson), utilizando a função 'zeroinfl()' do pacote 'pscl' em R (Zeileis et al., 2008). Esse enfoque permitiu uma análise robusta do impacto dos tratamentos na deposição de pólen heteroespecífico nos estigmas das flores.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Mapeamento do fluxo de pólen interespecífico

As proporções de estigmas contendo diferentes tipos de carga polínica diferem entre as espécies (Chi-quadrado=40.521; df=3; $p < 0.0001$; Figura 1A). Tanto a ocorrência quanto a quantidade de grãos de pólen presente sobre os estigmas diferem entre as espécies e entre o tipo de pólen, ie. intra ou interespecífico (Tabela 1 e Figura 1 B). Não foi detectada relação entre a quantidade de pólen intra e interespecífico em *B. pentandra* ($\rho = -0.04$, $p = 0.665$), mas existe uma relação negativa em *B. acuruana* ($\rho = -0.30$, $p < 0.0001$).

Os estigmas de ambas as espécies recebem maior carga de pólen intraespecífico, e os estigmas de *B. acuruana* captaram maior quantidade de pólen de *B. pentandra*, se comparada à carga de pólen que esta recebe de sua congênere. Embora uma pequena quantidade de pólen interespecífico tenha chegado aos estigmas das espécies, não houve influência significativa dessa quantidade para ambas as espécies.

4.3.2. Nível de tolerância de pólen interespecífico

Os experimentos mostraram que o bloqueio mecânico da superfície estigmática das flores exibiu um efeito negativo, visto que praticamente não houve formação de frutos, evidenciando a interferência polínica na reprodução das espécies (Tabela 2). Ainda assim, *B. acuruana* conseguiu suportar um pouco melhor o bloqueio do estigma considerando que ainda conseguiu produzir quatro frutos, embora com poucas sementes, no tratamento com 25% de microesferas de vidro. O experimento de polinização cruzada manual mostrou que as duas espécies diferiram em termos de capacidade de produção de frutos, uma vez que *B. pentandra* apresentou quase o dobro de formação de frutos e sementes que *B. acuruana* (Tabela 2). Contudo, em condições naturais ambas alcançaram

sucessos reprodutivos semelhantes para a formação de frutos, com a diferença anterior mantendo-se apenas em termos de produção de sementes, que foi bem significativa.

4.3.3. Morfometria

As espécies apresentaram diferenças entre as médias (mm) das distâncias operacionais. Os estames de *Bauhinia pentandra* apresentaram média = 32.9 (mm) e os estiletes, média = 44.1 (mm). Em *B. acuruana*, os estames exibiram média = 25.1 (mm), e os estiletes, média = 34 (mm).

4.4. DISCUSSÃO

Embora *Bauhinia acuruana* e *B. pentandra* tenham apresentado eficácia na polinização por receberem em seus estigmas uma carga maior de pólen intraespecífico, o fluxo de pólen entre as espécies é assimétrico, uma vez que *B. acuruana* recebe mais pólen de *B. pentandra* do que o inverso. Esse fato se deve ao maior tamanho das anteras de *B. pentandra*, e consequentemente, maior produção de grãos de pólen, se comparada a observada em *B. acuruana* (Pontes et al., 2024). Além disso, é um indicativo de isolamento mecânico para a restrição do fluxo gênico (Figura 1-C). Um trabalho recente realizado em nossa área de estudo, reportou que *B. acuruana* e *B. pentandra* estão completamente isoladas em sua reprodução por uma combinação de diversas barreiras reprodutivas, principalmente, as barreiras pós-polinização que não permitiram a formação de frutos após cruzamentos entre os táxons, o que demonstra a incompatibilidade entre as espécies (Albuquerque-Lima et al., 2023 d). Esses autores observaram que as espécies apresentam um moderado isolamento espacial, contudo, um longo período de sobreposição na floração. Esta última característica representa um efeito positivo, uma vez que espécies congêneres que coocorrem e florescem juntas, como as espécies deste estudo, podem apresentar taxas de polinização maiores, assim como o número de animais polinizadores (Barônio et al., 2016; Ghazoul, 2006). Isso ocorre devido ao aumento no desempenho da polinização, uma vez que haverá maior disponibilidade de flores ao mesmo tempo, permitindo que os polinizadores passem mais tempo na mesma área de forrageio.

Embora o período de floração das espécies nesse estudo apresente divergências entre o que foi observado por Albuquerque-Lima et al. (2023d), a sobreposição das espécies permanece em evidência. Essa divergência no período de floração se deve ao regime sazonal de chuvas que ocorre na região, geralmente concentradas de fevereiro a abril (Barbosa et al., 1989). Além disso, as espécies apresentam algumas particularidades como, morfologia floral semelhantes, compartilham morcegos polinizadores, além das semelhanças no horário de receptividade dos estigmas e disponibilidade de pólen e néctar nas flores (Albuquerque-Lima et al., 2023d). Embora todas essas características

possam representar um risco à reprodução das plantas, as espécies devem ter desenvolvido alguma estratégia para escapar da interferência polínica no ambiente natural, visto que o bloqueio mecânico da superfície estigmática das flores praticamente impediu a reprodução das espécies. Após verificar as distâncias operacionais das estruturas reprodutivas, observamos que embora as espécies apresentem semelhanças na morfologia floral, *B. pentandra* exibe o comprimento dos verticilos reprodutivos maiores em relação ao observado em *B. acuruana*. As diferenças observadas nas dimensões dos fenótipos revelam que as espécies realizam deposição e remoção de pólen em áreas diferentes do corpo do morcego. Os estigmas de *B. pentandra* podem remover um número maior de grãos de pólen após uma única visita, visto que o comprimento de seus estiletos favorece a captação de pólen em uma área maior do corpo do morcego. Dessa forma, é possível que essa estrutura funcione como um mecanismo de prevenção para reduzir o recebimento de pólen interespecífico e assim, evitar que o pólen de outras espécies obstrua a superfície estigmática.

A divergência evolutiva no fenótipo floral permite que as plantas consigam reduzir a concorrência, uma vez que evitam a mistura de pólen interespecífico ao selecionar diferentes partes do corpo do polinizador para deposição e remoção de pólen (Queiroz et al., 2016). Howell (1977) observou que várias espécies da América Central, adaptadas à polinização por morcegos, compartilham o período de floração e utilizam a divisão do corpo do polinizador para escapar da competição interespecífica. O autor observou que a floração das plantas pode ocorrer em sincronia, porém, o néctar e o pólen podem ficar disponíveis em momentos distintos nas diversas flores das espécies, e algumas espécies realizam deposição e remoção de pólen em regiões diferenciadas dos corpos dos morcegos, minimizando o risco de receberem pólen interespecífico.

Ao contrário de Howell (1977), que acreditava que a deposição diferencial de pólen nos polinizadores poderia ser resultante da baixa densidade desses animais na área de seu estudo, Minnaar et al. (2019a), afirmam que sempre que uma planta deposita pólen em um polinizador, ela tem a oportunidade de maximizar o seu sucesso reprodutivo, pois, ao deslocar, cobrir, e remover grãos de pólen de espécies concorrentes, as espécies podem coocorrer com sucesso. Partindo desta teoria, analisamos as estruturas reprodutivas das espécies e observamos que elas favorecem o controle sobre a posição relativa do corpo e direção de abordagem do polinizador, atributos reportados anteriormente por Armbruster et al. (2009). As espécies apresentam uma integração das partes florais que atua para o ajuste mecânico ao corpo do morcego (Armbruster et al., 2004, 2014), visto que, espécies que apresentam polinização especialista não estão adaptadas a receber alta carga de pólen interespecífico em seus estigmas (Bruckman & Campbell, 2016; Streher et al., 2020). As características morfológicas

e o comportamento do polinizador durante a visita têm sido associados à efetividade da polinização em diferentes sistemas (Miller et al., 2014; Palacios et al., 2019; Pontes et al., 2022). Os polinizadores de *Bauhinia acuruana* e *B. pentandra* são os morcegos *Glossophaga soricina* e *Lonchophylla mordax* que pertencem à família Phyllostomidae (sub-família Glossophaginae) (Albuquerque-Lima et al., 2023d). Os representantes desta família realizam manobras durante o voo, pois possuem massa corporal de tamanho reduzido (*Glossophaga soricina* Média=53,0 mm e *Lonchophylla mordax* Média=52,5 mm) (Reis et al., 2007). Além disso, desenvolveram especializações para exploração de néctar como, língua longa e muito extensiva, com a presença de papilas filiformes na região anterior da língua para facilitar o acesso e a retirada do néctar das flores.

Ao abordar a flor, o morcego paira diante da abertura floral (do hipanto); e insere a língua no interior da estrutura tubular para coletar o néctar. A visita é breve (Muchhala & Thomson, 2010), de forma que o polinizador permanece imóvel, eliminando o risco de uma eventual mistura de pólen. Enquanto as anteras são arrastadas pela região ventral do morcego, a entrada do hipanto age como uma barreira física, estabelecendo um limite de acesso ao recurso. Por sua vez, *Bauhinia acuruana* deposita o pólen no pescoço e tórax do morcego e *B. pentandra* deposita o pólen no tórax e abdômen do morcego. Logo, é formada uma faixa de pólen no corpo do morcego em uma direção consistente, processo semelhante ao reportado por Minnaar et al. (2019a). Os estigmas das flores de ambas as espécies são expostos além das anteras e fazem o primeiro contato com o corpo do animal para capturar o pólen de doadores anteriores. Posteriormente, as anteras entram em contato com o vetor, depositam o pólen, arrastando-o e formando uma faixa contínua, podendo deslocar o pólen de sua concorrente, ou o seu próprio pólen. Consequentemente, o estigma removerá mais pólen no início da faixa e empurrará um pouco do pólen previamente colocado para trás da faixa, resultando em camadas sobrepostas sucessivamente, de forma que, a maior parte da transferência de pólen para os estigmas será das últimas flores visitadas (Karron et al., 2009; Minnaar et al., 2019a). Portanto, as anteras de *Bauhinia pentandra* ao entrarem em contato com o corpo do polinizador, reduz as chances de o pólen ser removido por estruturas reprodutivas de *B. acuruana* numa visita posterior, em razão desta, apresentar medidas operacionais menores. Algumas espécies simpátricas de *Burmeistera* (Campanulaceae) reduzem a competição pela polinização divergindo no comprimento dos estames (Muchhala e Potts, 2007). A variação exibida entre os locais de exposição dos estames favorece a deposição de pólen em vários locais no corpo do polinizador, reduzindo assim, a quantidade de pólen interespecífico que chega à superfície estigmática, e consequentemente, o risco de interferência polínica.

O maior número de frutos e sementes formadas naturalmente em *Bauhinia pentandra* pode ser devido ao maior comprimento da estrutura tubular de suas flores (Albuquerque-Lima et al., 2023d). Antes de competir pelo acesso aos óvulos, as plantas competem pelo acesso ao vetor de pólen, e posteriormente, pelo acesso aos estigmas (Minnaar et al., 2019a). As flores de morfologias tubulares secretam e armazenam néctar no fundo dos tubos florais, e o comprimento extremo da língua dos morcegos evoluiu com essas flores, que aumentaram o comprimento do tubo e consequentemente, a duração da visita (Muchhala & Thomson, 2009). Dessa forma, alteram o ajuste mecânico e a precisão entre a flor e o polinizador (Caruso et al., 2019), além de se tornarem uma opção de melhor custo-benefício para os morcegos, já que estes precisam visitar muitas flores por noite para suprir seu gasto energético (Reis et al., 2007; Simon et al., 2019). Minnaar et al. (2019b) observaram que flores com tubos longos transferiam pólen de forma mais eficiente em relação às flores de tubos curtos, e que a deposição de pólen por visita no corpo do polinizador foi três vezes maior comparada à realizada em flores de tubos curtos. Em nosso estudo não examinamos a variação do comprimento do tubo floral das espécies, contudo, o comprimento dessa estrutura tem sido associado à frequência do polinizador (Muchhala & Thomson, 2009; Pauw et al., 2009; Anderson et al., 2010a, b), visto que o polinizador pode atuar como um filtro ao visitar mais flores de tubos longos (Haber & Frankie, 1989).

4.5. CONCLUSÕES

A morfologia floral das espécies de *Bauhinia* deste estudo exerce um papel fundamental na transferência de pólen, uma vez que as flores de *Bauhinia pentandra* formaram maior número de frutos e sementes na polinização natural. Além disso, evitam a transferência de pólen interespecíficos, visto que, o comprimento das estruturas reprodutivas promove um isolamento mecânico entre as espécies ao promover a deposição e remoção diferencial de pólen no corpo dos morcegos polinizadores.

Devido ao maior comprimento de seus estiletes, os estigmas de *Bauhinia pentandra* deslocam o pólen de espécies concorrentes para áreas no polinizador onde é improvável que seja removido por estigmas de *Bauhinia acuruana*. No entanto, esta demonstra estar mais apta a suportar a presença de pólen interespecífico do que sua congênere, visto que experimentou um efeito menor no recebimento de pólen interespecífico em seus estigmas. Embora ocorra competição por espaço no corpo do polinizador, a divergência dos fenótipos florais promove a deposição diferencial de pólen nos polinizadores, e a estratégia de deposição “do traço” utilizada por essas espécies, conseguem reduzir os riscos causados pela competição.

AGRADECIMENTOS

Às colegas de laboratório Luciana Soares e Thatiana Teixeira pelo auxílio no processo de Acetólise. Ao PELD/CNPq/Catimbau Projeto de Pesquisa Ecológica de Longa Duração pelo apoio logístico para realizar o projeto. Ao CNPq pelo suporte financeiro parcial (Edital Universal 437424/2018-9 e Produtividade em Pesquisa a ICM - 310508/2019-3) A FACEPE – Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (APQ-0808-2.03/16). Aos colegas do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva – Polinizar, Departamento de Botânica, UFPE (Universidade Federal de Pernambuco). A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES–88882.347732/2019-0) pela Bolsa de Doutorado a CASP e Código Financeiro 001.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque-Lima, S., Taylor, N., Zappi, D., & Machado, I. C. (2023a). Floral specialization and bat pollination in Subtribe Cereinae (Cactaceae): A morphological approach. *Diversity*, 15,207. <https://doi.org/10.3390/d15020207>
- Albuquerque-Lima, S., Zappi, D., Taylor, N. P., Lowry, M., Winberg, M., & Machado, I. C. (2023b). North by Northwest: Are unilateral cephalium-bearing cacti bio-compasses? *Ecology*, 104, e4058. <https://doi.org/10.1002/ecy.4058>
- Albuquerque-Lima, S., Zappi, D., Taylor, N. P., Lowry, M., Winberg, M., & Machado, I. C. (2023c). Nature's GPS: Unilateral cephalium-bearing cacti as bio-compasses. *Bulletin of the Ecological Society of America* (Online), 1, e2093. <https://doi.org/10.1002/bes2.2093>
- Albuquerque-Lima, S., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2023d). Reproductive isolation between two sympatric bat-pollinated *Bauhinia* (Leguminosae). *Journal of Plant Research*. <https://doi.org/10.1007/s10265-023-01508-x>
- Albuquerque-Lima, S., Milet-Pinheiro, P., Navarro, D. F., Taylor, N., Zappi, D., & Machado, I. C. (2024). Intermediary floral traits between natural hybrid and its parents in the *Xiquexique* (Cactaceae). *Organisms Diversity & Evolution* 24, 17-34.
- Alves-dos-Santos, I., Silva, C. I., Pinheiro, M., & Kleinert, A. M. P. (2016). When a floral visitor is a pollinator? *Rodriguésia*, 67, 295–307. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667202>
- Anderson, B., Alexandersson, R., & Johnson, S. D. (2010a). Evolution and coexistence of pollination ecotypes in an African *Gladiolus* (Iridaceae). *Evolution*, 64, 960–972. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00880.x>
- Anderson, B., Terblanche, J. S., & Ellis, A. G. (2010b). Predictable patterns of trait mismatches between interacting plants and insects. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 204. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-204>
- Andrade, K. V. S. A., & Rodal, M. J. N. (2004). Fisionomia e estrutura de um remanescente de floresta estacional semidecidual de terras baixas no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27, 463–474. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042004000300007>

- Armbruster, W. S., & Edwards, M. E. (1994). Floral character displacement generates assemblage structure of Western Australian triggerplants (*Stylidium*). *Ecology*, 75, 315–329. <https://doi.org/10.2307/1939537>
- Armbruster, W. S., Pélabon, C., Hansen, T. F., & Mulder, C. P. H. (2004). Floral integration, modularity, and precision distinguishing complex adaptations from genetic constraints. In M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes* (pp. 23–49). Nova York.
- Armbruster, W. S., & Muchhala, N. (2009). Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? *Evolutionary Ecology*, 23, 159–179. <https://doi.org/10.1007/s10682-008-9259-z>
- Armbruster, W. S., Shi, X. Q., & Huang, S. Q. (2014). Do specialized flowers promote reproductive isolation? Realized pollination accuracy of three sympatric *Pedicularis* species. *Annals of Botany*, 113, 331–340. <https://doi.org/10.1093/aob/mct187>
- Arceo-Gómez, G., & Ashman, T. L. (2011). Heterospecific pollen deposition: does diversity alter the consequences? *The New Phytologist*, 192, 738–746. <https://doi.org/10.1111/j.14698137.2011.03831.x>
- Athiê-Souza, S. M., Melo, J. I. M., Silva, L. P., Santos, L. L., Santos, J. S., Oliveira, L. S. D., & Sales, M. F. (2019). Phanerogamic flora of the Catimbau National Park, Pernambuco, Brazil. *Biota Neotropica*, 19, e20180622. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0622>
- Baranzelli, M. C., Ochoa-sánchez, M., Ramos, S. E., Baena-Díaz, F., Sosenski, P., Boege, K., Domínguez, C. A., Fornoni, J. (2024). Effects of anther-stigma position on cross-pollination efficiency in a hermaphroditic plant. *American Journal of Botany*, 111: e 16377. <https://doi.org/10.1002/ajb2.16377>
- Barbosa, D.C.A., Alves, J.L.H., Prazeres, S.M., Paiva, A.M.A. (1989). Dados fenológicos de 10 espécies arbóreas de uma área de Caatinga (Alagoinha-PE). *Acta Botanica Brasilica*, 3, 109–117. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33061989000300011>
- Barônio, G. J., Maciel, A. A., Oliveira, A. C., Kobal, R. O., Meireles, D. A., Brito, V. L., & Rech, A. R. (2016). Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. *Rodriguésia*, 67, 275–293. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667201>
- Boero, L., Agostini, K., & Domingos-Melo, A. (2022). Polinização por morcegos e sua importância. In: *Ciência cidadã e polinizadores da América do Sul*. Ed. Cubo Multimídia, 1 edição, São Carlos, São Paulo, 154 p.
- Borges, R. M., Somanathan, H., & Kelber, A. (2016). Patterns and processes in nocturnal and crepuscular pollination services. *The Quarterly Review of Biology*, 91, 389–418. <https://doi.org/10.1086/689481>
- Briggs, H. M., Anderson, L. M., Atalla, L. M., Delva, A. M., Dobbs, E.K., & Brosi B.J. (2016). Heterospecific pollen deposition in *Delphinium barbeyi*: linking stigmatic pollen loads to

- reproductive output in the field. *Annals of Botany*, 117, 341–347. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv175>
- Brito, V. L. G., Pinheiro, M., & Sazima, M. (2010). *Sophora tomentosa* e *Crotalaria vitellina* (Fabaceae): biologia reprodutiva e interações com abelhas na restinga de Ubatuba, São Paulo. *Biota Neotropica*, 10, 185–192. <http://www.biotaneotropica.org.br/v10n1/en/abstract?Article+bn03310012010>
- Bruckman, D., & Campbell, D. R. (2016). Timing of invasive pollen deposition influences pollen tube growth and seed set in a native plant. *Biological Invasions*, 18, 1701–1711. <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1113-6>
- Caruso, C. M., Eisen, K. E., Martin, R. A., Sletvold, N. (2019). A meta-analysis of the agents of selection on floral traits. *Evolution*, 73, 4–14. <https://doi.org/10.1111/evo.13639>
- Córdula, E., Morim, M. P., & Alves, M. (2014). Morfologia de frutos e sementes de Fabaceae ocorrentes em uma área prioritária para a conservação da Caatinga em Pernambuco, Brasil. *Rodriguésia*, 65, 505–516. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602014000200012>
- Cruz-Neto, O., Machado, I. C., Galetto, L., & Lopes, A. V. (2015). The influence of nectar production and floral visitors on the female reproductive success of *Inga* (Fabaceae): a field experiment. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177, 230–245. <https://doi.org/10.1111/boj.12236>
- Diniz, U. M., Domingos-Melo, A., & Machado, I. C. (2019). Flowers up! The effect of floral height along the shoot axis on the fitness of bat-pollinated species. *Annals of Botany*, 124, 809–818. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz116>
- Domingos-Melo, A., Milet-Pinheiro, P., Navarro, D. M. A. F., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2020). It's raining fragrant nectar in the Caatinga: evidence of nectar olfactory signaling in bat-pollinated flowers. *Ecology*, 101, e02914-6. <https://doi.org/10.1002/bes2.1640>
- Domingos-Melo, A., Albuquerque-Lima, S., Diniz, U. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2023). Bat pollination in the Caatinga: a review of studies and peculiarities of the system in the New World's largest and most diverse Seasonally Dry Tropical Forest. *Flora*, 305, 152332. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152332>
- Endress, P. K. (1994). Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. p. 511.
- Erdtman, G. (1960). The Acetolysis Method—A Revised Description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54, 561–564.
- Fleming, T. H., Geiselman, C., & Kress, W. J. (2009). The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104, 1017–1043. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp197>
- Ghazoul, J. (2006). Floral diversity and the facilitation of pollination. *Journal of Ecology*,

94, 295– 304. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01098.x>

- Gentry, A. H. (1988). Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanic Garden*, 75, 1–34. <https://doi.org/10.2307/2399464>
- Karron, J. D., Holmquist, K. G., Flanagan, R. J., & Mitchell, R. J. (2009). Pollinator visitation patterns strongly influence among-flower variation in selfing rate. *Annals of Botany*, 103, 1379–1383. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp030>
- Haber, W. A., Frankie, G. W. (1989). A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest Sphingidae. *Biotropica*, 21, 155–172. <https://doi.org/10.2307/2388706>
- Howell, D. J. (1977). Time sharing and body partitioning in bat–plant pollination systems. *Nature*, 270, 509–510.
- Kyogoku, D. (2015). Reproductive interference: Ecological and evolutionary consequences of interspecific promiscuity. *Population Ecology*, 57, 253–260. <https://doi.org/10.1007/s10144-015-0486-1>
- Locatelli, E., Machado, I. C., & Medeiros, P. (1997). Floral biology and bat pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in Northeastern Brazil. *Bradleya*, 15, 28–34. <https://doi.org/10.25223/brad.n15.1997.a3>
- Machado, I. C. S., & Lopes, A. V. F. (2004). Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. *Annals of Botany*, 94, 365–376. <https://doi.org/10.1093/aob/mch152>
- Machado, I. C. S., & Vogel, S. (2004). The North-east-Brazilian liana, *Adenocalymma dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany*, 93, 609–613. <https://doi.org/10.1093/aob/mch069>
- Miller, T. J., Raguso, R. A., & Kay, K. M. (2014). Novel adaptation to hawkmoth pollinators in *Clarkia* reduces efficiency, not attraction of diurnal visitors. *Annals of Botany*, 113 317–329. <https://doi.org/10.1093/aob/mct237>
- Minnaar, C., Anderson, B., de Jager, M. L., & Karron, J. D. (2019a). Plant–pollinator interactions along the pathway to paternity. *Annals of Botany*, 123, 225–245. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy167>
- Minnaar, C., de Jager, M. L., & Anderson, B. (2019b). Intraspecific divergence in floral tube length promotes asymmetric pollen movement and reproductive isolation. *New Phytologist*, 224, 1160–1170. <https://doi.org/10.1111/nph.15971>
- Moreira-Hernández, J. I., & Muchhala, N. (2019). Importance of pollinator-mediated interspecific pollen transfer for angiosperm evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50, 191–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024804>

- Muchhala, N., & Potts, M. D. (2007). Character displacement among bat-pollinated flowers of the genus *Burmeistera*: analysis of mechanism, process and pattern. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 2731–2737. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0670>
- Muchhala, N., Caiza, A., Vizuite, J. C., & Thomson, J. D. (2008). A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany*, 103, 1481–1487. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn260>
- Muchhala, N., & Thomson, J. D. (2009). Going to great lengths: selection for long corolla tubes in an extremely specialized bat–flower mutualism. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 276, 2147–2152. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0102>
- Muchhala, N., & Thomson, J. D. (2010). Fur versus feathers: Pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *The American Naturalist*, 175, 717–726. <https://doi.org/10.1086/652473>
- Muchhala, N., & Thomson, J. D. (2012). Interspecific competition in pollination systems: costs to male fitness via pollen misplacement. *Functional Ecology*, 26, 476–482. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01950.X>
- Palacios, J. A. P., Soteras, F., & Cocucci, A. A. (2019). Mechanical fit between flower and pollinators in relation to realized precision and accuracy in the hummingbird-pollinated *Dolichandra cynanchoides*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 126, 655–665. <https://doi.org/10.1093/biolinlean/bly219>
- Paudel, B. R., Burd, M., Shrestha, M., Dyer, A. G., & LI, Q. J. (2018). Reproductive isolation in alpine gingers: how do coexisting *Roscoea* (*R. purpurea* and *R. tumjensis*) conserve species integrity? *Evolution*, 72, 1840–1850. <https://doi.org/10.1111/evo.13546>
- Pauw, A., Stofberg, J., & Waterman, R. J. (2009). Flies and flowers in Darwin’s race. *Evolution*, 63, 268–279. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00547.x>
- Peel, M. C., Finlayson, B. L., & McMahon, T. A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, 11, 1633–1644. <https://doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007>
- Pontes, C. A. S., Domingos-Melo, A., Milet-Pinheiro, P., Navarro, D. M. A. F., Nadia, T. L., & Machado, I. C. (2022). Staminode of *Jacaranda rugosa* A.H. Gentry (Bignoniaceae) promotes functional specialization by ensuring signaling and mechanical fit to medium-sized bees. *Organisms Diversity & Evolution*, 22. <https://doi.org/10.1007/s13127-022-00558-8>

- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., & Machado, I. C. (2015). Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. *AoB PLANTS*, 7, plv127. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv127>
- Queiroz, J. A., Quirino, Z. G. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2016). Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. *Journal of Arid Environments*, 125, 21–30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.09.015>
- Reis, N. R., Peracchi, A. L., Pedro, W. A., & de Lima, I. P. (2007). Morcegos do Brasil. Ciências Biológicas, Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), 256p.
- Rocha, E. A., Machado, I. C., & Zappi, D. C. (2007). Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in Northeastern Brazil. *Bradleya*, 25, 129–144. <https://doi.org/10.25223/brad.n25.2007.a10>
- SADMET/INMET. (2023). Seção de armazenamento de dados meteorológicos/Instituto de meteorologia. Acesso em 15 novembro 2023. http://www.inmet.gov.br/html/central_servicos/combo_produtos.html
- Serafim-Filho, G. L., Santos, L. L. dos., Souza, S. M. A. de., Rodal, M. J. N., Melo, J. I. M. de., & Sales, M. F. (2021). Florística e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea em duas áreas sedimentares do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 6, 136–152. <https://doi.org/10.24221/jeap.6.2.2021.3982.1>
- Simon, R., Matt, F., Santillan, V., Tschapka, M., Tuttle, M., & Halfwerk, w. (2019). An ultrasound absorbing inflorescence zone enhances echo-acoustic contrast of bat-pollinated cactus flowers. *Ecology & Evolution*, 226, 1–5. <https://doi.org/10.1101/2019.12.28.890046>
- Streher, N. S., Bergamo, P. J., Ashman, T., Wolowski, M., & Sazima, M. (2020). Effect of heterospecific pollen deposition on pollen tube growth depends on the phylogenetic relatedness between donor and recipient. *AoB Plants*, 12, 9–27. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plaa016>
- Sudene - Superintendência do desenvolvimento do Nordeste (1990) Dados pluviométricos mensais do Nordeste. Recife, Pernambuco. <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta>
- Vaz, A. M. S. F. (2001). Taxonomia de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. Dissertation, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

- Vaz, A. M. S. F., Azevedo, Tozzi, A. M. G. (2003). *Bauhinia* ser. *Cansenia* (Leguminosae: Caesalpinioideae) no Brasil. *Rodriguésia*, 54, 55–143. <https://doi.org/10.1590/2175-78602003548305>
- Vaz, A. M. S. F., Tozzi, A. M. G. A. (2005). Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) DC. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. *Brazilian Journal of Botany*, 28, 477–491. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000300006>
- Vogel, S., Machado, I. C., & Lopes, A. V. (2004). *Harpochilus neesianus* and other novel cases of chiropterophily in neotropical Acanthaceae. *Taxon*, 53, 55–60. <https://doi.org/10.2307/4135488>
- Vogel, S., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2005). Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii*: an unusual case and first report for the genus. *Taxon*, 54, 693–700. <https://doi.org/10.2307/25065426>
- Webb, C. J., & Lloyd, D. G. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24, 163–178. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1986.10409726>
- Waser, N. M., & Price, M. V. (1983). Pollinator behaviour and natural selection for flower colour in *Delphinium nelsonii*. *Nature*, 302, 422–424. <https://doi.org/10.1038/302422a0>
- Wendt, T., Coser, T. S., Matallana, G., & Guilherme, F. A. G. (2008). An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 275, 31–41. <https://doi.org/10.1007/s00606-0080054-7>
- Zhang, J. J., Montgomery, B. R., Huang, S-Q. (2016). Evidence for asymmetrical hybridization despite pre- and post-pollination reproductive barriers between two *Silene* species. *AoB PLANTS*. 8:plw032. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw032>
- Zeileis, A., Kleiber, C., & Jackman, S. (2008). Regression models for count data in R. *Journal of Statistical Software*, 27, 1–25. <https://doi.org/10.18637/jss.v027.i08>

TABELAS

Tabela 1 – Efeito da ocorrência, quantidade e tipo de pólen depositados nos estigmas das espécies *Bauhinia acuruana* e *B. Pentandra* (Fabaceae). O modelo de zero inflado distingue as análises entre a ocorrência de grãos de pólen (Binomial) e a quantidade de grãos sobre os estigmas (Poisson).

Coeficiente do modelo de contagem
(Poisson)

	Estimate	Std. Error	Z	p
Espécie (<i>B. acuruana</i> / <i>B. pentandra</i>)	-0.15	0.06	-2.46	0.014
Pólen (Intraespecífico/Interespecífico)	0.19	0.03	6.44	<0.0001
Espécie*Pólen	0.56	0.06	8.72	<0.0001

Coeficiente dos modelos de Zero-inflado
(Binomial)

	Estimate	Std. Error	Z	p
Espécie (<i>B. acuruana</i> / <i>B. pentandra</i>)	1.45	0.33	4.44	<0.0001
Pólen (Intraespecífico/Interespecífico)	-2.21	0.25	-8.79	<0.0001
Espécie*Pólen	-5.01	1.07	-4.67	<0.0001

Tabela 2 – Resultados dos experimentos de polinização controlada na formação de frutos de sementes.

		Frutos formados	Proporção de frutos formados	Sementes (média±dp)
<i>B. acuruana</i>	25% microesferas de vidro	4 ^a	8.89%	0.16±1.45 ^a
	50% microesferas de vidro	0	0.00%	-
	Polinização cruzada	22 ^b	48.89%	1.23±3.76 ^b
	Polinização natural	12 ^c	13.33%	1.20±3.39 ^b
<i>B. pentandra</i>	25% microesferas de vidro	0	0.00%	-
	50% microesferas de vidro	0	0.00%	-
	Polinização cruzada	36 ^a	80.00%	2.76±5.38 ^c
	Polinização natural	15 ^c	16.67%	3.85±6.15 ^c

(letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos analisados através de testes de chi-quadrado)

FIGURAS

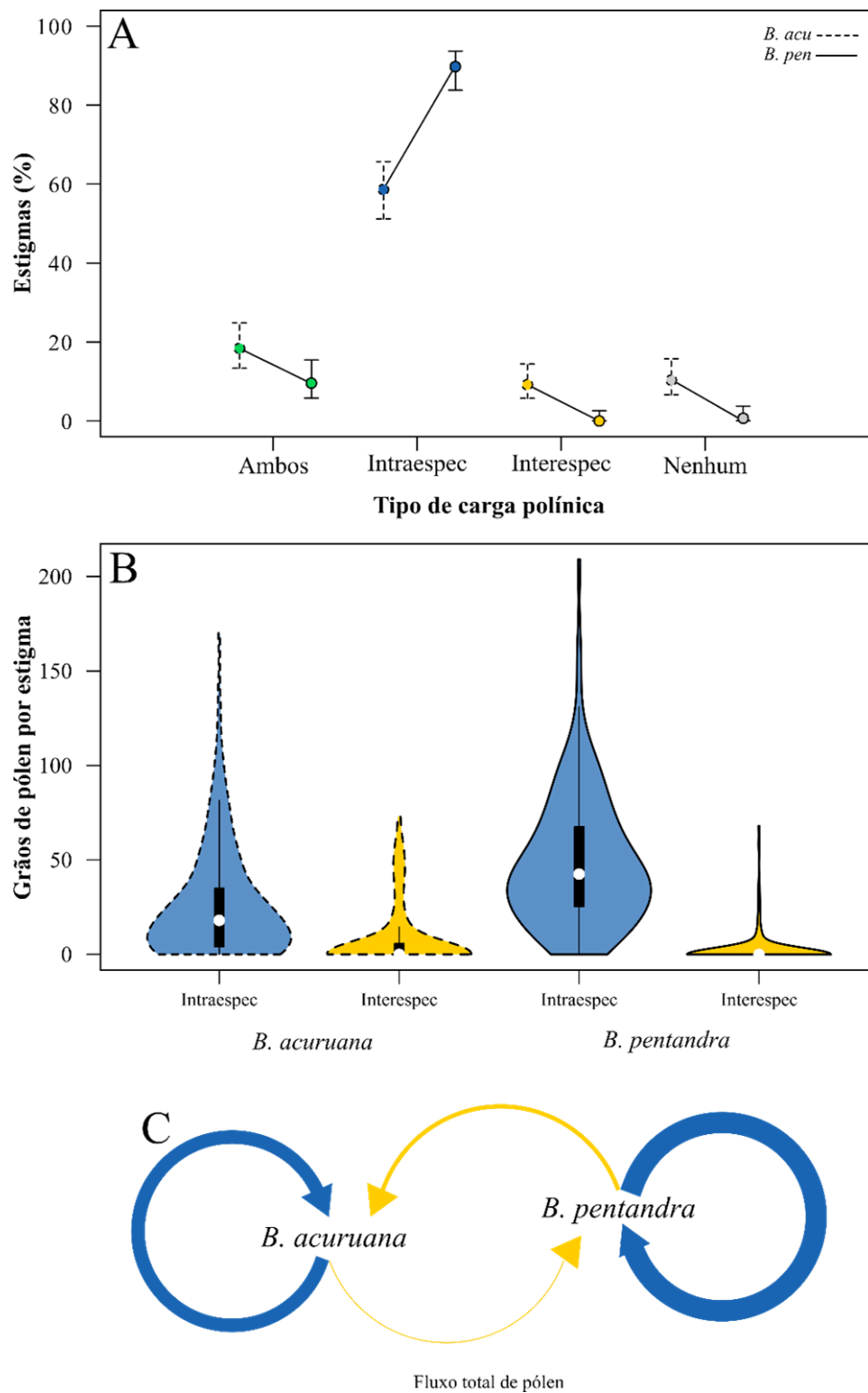


Figura 1 – Deposição de pólen intra e interespecífico em *Bauhinia acuruana* e *B. pentandra*. (A) Proporção de estigmas contendo diferentes tipos de carga polínica. (B) Quantidade de grãos de pólen intra e interespecífico entre as duas espécies. (C) Diagrama do fluxo total de pólen entre as espécies (a espessura das setas indica a quantidade de pólen transferido).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies quiropterófilas de Caatinga apresentadas em nosso estudo apresentam precisão floral na deposição e remoção de pólen, inclusive, àquelas que apresentam ausência de hercogamia. Esse é o primeiro registro de precisão floral para flores de hercogamia não ordenada na polinização por morcegos. As espécies quiropterófilas utilizam diferentes estratégias para evitar a transferência de pólen interespecífico como: i) Depositando e removendo pólen no corpo do polinizador em um local exclusivo; ii) florescendo em períodos diferentes de espécies sincronopátricas, evitando a sobreposição fenológica; iii) depositando o pólen em diferentes partes do corpo do polinizador, evitando a sobreposição morfológica; e iv) ajustando a morfologia da flor ao polinizador. De forma geral, as espécies possuem um mecanismo peculiar para fugir da interferência polínica no hábitat natural.

Nossas conclusões são com base nas dimensões dos fenótipos florais, no entanto, para entendermos como ocorre a acurácia realmente realizada na interação planta-polinizador, principalmente, em espécies que podem apresentar vários grupos de visitantes florais, se faz necessário utilizar uma abordagem de acurácia realizada. Ressaltamos que, como previsto, nossas hipóteses foram corroboradas. No entanto, não esperávamos que algumas flores de morfologia não restritiva apresentassem maior acurácia em relação às flores de morfologia restritiva. Observamos que o investimento na produção de pólen não está relacionado aos atributos florais das espécies, uma vez que a espécie (*Harpochilus neesianus*) que apresentou alto investimento na produção de pólen, exibiu o menor índice de inacurácia dentre as espécies deste estudo, apresentando, portanto, maior precisão floral.

As variações observadas nas estratégias reprodutivas entre as espécies acentuam a plasticidade e a eficácia dos mecanismos de polinização em resposta a condições ecológicas específicas. Embora a competição interespecífica pelo espaço dos polinizadores seja evidente, as adaptações morfológicas atenuam a potencial interferência do pólen, enfatizando a importância de características florais divergentes. À medida que os ecossistemas globais enfrentam desafios, a compreensão e a preservação destas interações especializadas tornam-se fundamentais.

Os esforços de conservação direcionados tanto às plantas quiropterófilas quanto aos seus morcegos polinizadores são essenciais para sustentar o delicado equilíbrio destes ecossistemas. Em última análise, este estudo contribui não só para o conhecimento científico, mas também defende um

reconhecimento mais amplo da importância ecológica da polinização mediada por morcegos na manutenção da resiliência e da biodiversidade dos habitats naturais.

Trabalhos futuros devem envolver fluxo de pólen em nível de comunidade, assim como, estudos relacionados à morfologia polínica dessas espécies, para esclarecer o motivo pelo qual o morcego foi escolhido para polinizar tantas espécies vegetais no ambiente de Caatinga.

6. REFERÊNCIAS

- AIGNER, P. A. Floral specialization without trade-offs: optimal corolla flare in contrasting pollination environment. **Ecology**. n.85, pp.2560–2569, 2004.
- ALBUQUERQUE-LIMA, S; TAYLOR, N. P; ZAPPI, D; MACHADO, I. C. Floral specialization and bat pollination in Subtribe *Cereinae* (Cactaceae): A morphological approach. **Diversity**. 15, 207, 2023 a.
- ALBUQUERQUE-LIMA, S; ZAPPI, D; TAYLOR, N. P; LOWRY, M; WINBERG, M; MACHADO, I. C. North by Northwest: Are unilateral cephalium-bearing cacti bio-compasses? **Ecology**. v.104, e4058, 2023 b.
- ALBUQUERQUE-LIMA, S; ZAPPI, D; TAYLOR, N. P; LOWRY, M; WINBERG, M; MACHADO, I. C. Nature's GPS: Unilateral cephalium-bearing cacti as bio-compasses. **Bulletin of the Ecological Society of America**. (Online), 1, e2093, 2023 c.
- ALBUQUERQUE-LIMA, S; LOPES, A. V; MACHADO, I. C. Reproductive isolation between two sympatric bat-pollinated *Bauhinia* (Leguminosae). **Journal of Plant Research**. 2023 d.
- ARCEO- GÓMEZ, G; ABDALA-ROBERTS, L; JANKOWIAK, A; KOHLER, C; MEINDL, G. A; NAVARRO-FERNÁNDEZ, C. M; PARRA-TABLA, V; ASHMAN, T. L, ALONSO, C. Patterns of among-and within-species variation in heterospecific pollen receipt: the importance of ecological generalization. **American Journal of Botany**. v.103, n.3, pp.396–407, 2016 a.
- ARCEO-GÓMEZ, G; KACZOROWSKI, R. L; PATEL, C; ASHMAN, T. L. Interactive effects between donor and recipient species mediate fitness costs of heterospecific pollen receipt in a co-flowering community. **Oecologia**. v.189, n.4, pp.1041–1047, 2019.
- ARENDSE, B; JOHNSON, S. D; VAN DER NIET, T; MIDGLEY, J. J. Breedings systems and pollen-ovule ratios in *Erica* species (Ericaceae) of the cape floristic region. **International Journal of Plant Sciences**. v.182, n.2, pp.151–160, 2021.
- ARMBRUSTER, W. S; EDWARDS; M. E. Floral character displacement generates assemblage structure of Western Australian triggerplants (*Stylidium*). **Ecology**. v.75, n.2, pp.315–329, 1994.
- ARMBRUSTER, W. S; PÉLABON, C; HANSEN, T. F; MULDER, C. P. H. Floral integration and modularity: distinguishing complex adaptations from genetic constraints. In: PIGLIUCCI, M; PRESTON, K. A (eds). **The evolutionary biology of complex phenotypes**. Oxford University Press, Oxford. pp.23–49, 2004.
- ARMBRUSTER, W. S, PÉREZ-BARRALES, R; ARROYO, J; EDWARDS, M. E; VARGAS, P. Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. **New Phytologist**. v.171, n. 3, pp.581–590, 2006.
- ARMBRUSTER, W. S; MUCHHALA, N. Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? **Evolutionary Ecology**. v.23, n.1, pp.159–179, 2009.

- ARMBRUSTER, W. S; HANSEN, T. F, PÉLABON, C; BOLSTAD, G. H. Macroevolutionary patterns of pollination accuracy: a comparison of three genera. **New Phytologist**. v.183, n.3, pp. 600–617, 2009 a.
- ARMBRUSTER, W. S; HANSEN, T. F, PÉLABON, C; PÉREZ-BARRALES, R; MAAD, J. The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. **Annals of Botany**. v.103, n.9, pp.1529–1545, 2009 b.
- ARMBRUSTER, W. S; PÉLABON, C; BOLSTAD, G. H; HANSEN, T. F. Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**. v.369, n.1649, 2014.
- ARMBRUSTER, W. S; CORBET, S. A, VEY, A. J. M; LIU, S. J; HUANG, S. Q. In the right place at the right time: *Parnassia* resolves the herkogamy dilemma by accurate repositioning of stamens and stigmas. **Annals of Botany**. v.113, n.1, pp. 97–103, 2014 a.
- ARMBRUSTER, W. S; SHI, X-Q; HUANG, S-Q. Do specialized flowers promote reproductive isolation? Realized pollination accuracy of three sympatric *Pedicularis* species. **Annals of Botany**. v.113, n.2, pp. 331–340, 2014 b.
- ARMBRUSTER, W. S; MUCHHALA, N. Floral reorientation: the restoration of pollination accuracy after accidents. **New Phytologist**. v.227, n.1, 2020.
- ASHMAN, T-L; ARCEO-GÓMEZ, G. Toward a predictive understanding of the fitness costs of heterospecific pollen receipt and its importance in coflowering communities. **American Journal of Botany**. v.100, n.6, pp.1061–1070, 2013.
- BENADI, G; BLÜTHGEN, N; HOVESTADT, T; POETHKE, H. J. When can plant-pollinator interactions promote plant diversity? **The American Naturalist**. v.182, n.2, pp. 131–46, 2013.
- BOECHSENIUS, F; LOZADA, T; KNUDSEN, J. T. Reproductive isolation of sympatric forms of the understory palm *Geonoma macrostachys* in western Amazonia. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 182, n. 2, pp.398–410, 2016.
- BORGES, J. P. R. **Fluxo de pólen heteroespecífico entre espécies sincronopátricas de *Psychotria* (Rubiaceae)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal, Universidade Federal de Goiás/GO (UFG), 2017.
- BRAGA, B. L. P; MATIAS, R; CONSOLARO, H; SOUZA, J. T; ALMEIDA, N. M. Inaccuracy of sexual organ position and spatial variation of styles in monomorphic enantiostylous flowers of *Senna rugosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Flora**. v.293, 152112, 2022.
- BRIGGS, H. M; ANDERSON, L. M; ATALLA, L. M; DELVA, A. M; DOBBS, E. K; BROSI, B.J. Heterospecific pollen deposition in *Delphinium barbeyi*: linking stigmatic pollen loads to reproductive output in the field. **Annals of Botany**. v.117, n.2, pp.341–347, 2016.
- BRYN, R; JACQUEMYN, H. Biological Flora of the British Isles: *Primula veris* L. **Journal of Ecology**. v.97, n.3, pp.581–600, 2009.

- BROWN JR, W. R; WILSON, E. O. Character displacement. **Systematic Zoology**. v.5, n.2, pp.49–64, 1956.
- BURD, M. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. **Botanical Review**. v.60, n.1, pp.83–139, 1994.
- CARUSO, C. M. Competition for pollination influences selection on floral traits of *Ipomopsis aggregata*. **Evolution**. v.54, n.5, pp.1546–1557, 2000.
- CAMPBELL, D. R, MOTTEN, A. F. The Mechanism of Competition for Pollination between Two Forest Herbs. **Ecology**. v.66, n.2, pp.554–563, 1985.
- CORDERO-SCHMIDT, E; MARUYAMA, P. K; VARGAS-MENA, J. C; OLIVEIRA, P; SANTOS, F. A. R; MEDELLÍN, R. A; HERRERA, B. R; VENTICINQUE, E. Bat–flower interaction networks in Caatinga reveal generalized associations and temporal stability. **Biotropica**. v.53, n.6, pp.1546–1557, 2021.
- CRUDEN, R. W. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Society for the Study of Evolution**. v.31, pp.32–46, 1977.
- CRUDEN, R. W. Pollen grains: Why so many? **Plant Systematics and Evolution**. v.222, pp.143–165, 2000.
- CRUDEN, R. W; HERMANN-PARKER, S. M. Butterfly Pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with Observations on a Psychophilous Syndrome. **The Journal of Ecology**. v. 67, pp.155–168, 1979.
- CRUDEN, R. W; JENSEN, K. G. Viscin threads, pollination efficiency and low pollen ovule ratios. **American Journal of Botany**. v.66, pp.875–879, 1979.
- CRUDEN, R. W; MILLER-WARD, S. Pollen-ovule ratio, pollen size, and the ratio of stigmatic area to the pollen-bearing area of the pollinator: an hypothesis. **Evolution**. v.35, n.5, pp.964–974, 1981.
- CUMMINGS, G; ANDERSON, S; DENNIS, T; TOTH, C; PARSONS, S. Competition for pollination by the lesser short-tailed bat and its influence on the flowering phenology of some New Zealand endemics. **Journal of Zoology**. v.293, n.4, pp.281–288, 2014.
- CZENZE, C; THURLEY, T. Weather and demographics affect *Dactylanthus* flower visitation by New Zealand lesser short-tailed bats. **New Zealand Journal of Ecology**. v.42, n.1, 2017.
- DARWIN, C. R. **The origin of species**. 1 ed., London: John Murray, 1859.
- DAYAN, T; SIMBERLOFF, D. Ecological and community-wide character displacement: the next generation. **Ecology Letters**. v.8, n.9, pp.875–894, 2005.
- De JAGER, M. L; PEAKALL, R. Experimental examination of pollinator mediated selection in a sexually deceptive orchid. **Annals of Botany**. v.123, n.2, pp.347–354, 2019.

DOMINGOS-MELO, A; ALBUQUERQUE-LIMA, S; DINIZ, U. M; LOPES, A. V; MACHADO, I. C. Bat pollination in the Caatinga: a review of studies and peculiarities of the system in the New World's largest and most diverse Seasonally Dry Tropical Forest. **Flora**. v.305, 152332, 2023.

FAEGRI, K. I; VAN DER PIJL, L. **The principles of pollination ecology**. 3 ed. Pergamon, Oxford, 244 p., 1979.

FANG, Q; HUANG, S-Q. A directed network analysis of heterospecific pollen transfer in a biodiverse community. **Ecology**. v.94, n.5, pp.1176–1185, 2013.

FEINSINGER, P. Coevolution and pollination. In: FUTUYMA, D. J; SLATKIN, M. (eds), **Coevolution**. Sinauer Associates Publishers, Sunderland. pp.282–310, 1983.

FENSTER, C. B; ARMBRUSTER, W. S; WILSON, P; DUDASH, M. R; THOMSON, J. D. Pollination syndromes and floral specialization. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. v.35, pp.375–403, 2004.

FLANAGAN, R. J; MITCHELL, R. J; KNUTOWSKI, D; KARRON, J. D. Interspecific pollinator movements reduce pollen deposition and seed production in *Mimulus ringens* (Phrymaceae). **American Journal of Botany**. v.96, n.4, pp.809–815, 2009.

FLEMING, T. H; GEISELMAN, C; KRESS, W. J. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. **Annals of Botany**. v.104, n.6, pp.1017–1043, 2009.

GHAZOUL, J. Floral diversity and the facilitation of pollination. **Journal of Ecology**. v.94, n.2, pp.295–304, 2006.

GIACOMINI, H. C. Os mecanismos de coexistência de espécies como vistos pela teoria ecológica. **Oecologia Brasiliensis**. v.11, pp.521–543, 2007.

GIMENEZ, E. A; FERRAREZZI, H; TADDEI, V. A. Lingual morphology and cladistic analysis of the New World nectar-feeding bats (Chiroptera: Phyllostomidae). **Journal of Comparative Biology**. v.1, p.45-63, 1996.

GÓMEZ, J. M; ZAMORA, R. Ecological factors that promote the evolution of generalization in pollination systems. In: Waser NM, Ollerton J (eds) **Plant–pollinator interactions, from specialization to generalization**. University of Chicago Press, Chicago, Ill., pp.145–165, 2006.

GONZALEZ-TERRAZAS, T. P; MARTEL, C; MILET-PINHEIRO, P; AYASSE, M; KALJO, E. K. V; TSCHAPKA, M. Finding flowers in the dark: nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. **Royal Society of Science**. v.3, n.8, 2016.

GROSS, C. L; MACKAY, D. A; WHALEN, M. A. Aggregated flowering phenologies among three sympatric legumes: the degree of non-randomness and the effect of overlap on fruit set. **Plant Ecology**. v.148, n.1, pp.13–21, 2000.

HANSEN, T. F; CARTER, A. J. R; PÉLABON, C. On adaptive accuracy and precision in natural populations. **American Naturalist**. v.168, n.2, pp.168–181, 2006.

- HARDER, L. D; JOHNSON, S. D. Function and evolution of aggregated pollen in angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**. v.169, n.1, pp.59–78, 2008.
- HARDER, L. D; AIZEN, M. A. Floral adaptation and diversification under pollen limitation. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**. v.356, n.1539, pp.529–543, 2010.
- HEIDUK, A; BRAKE, I; TSCHIRNHAUS, M. V; GÖHL, M; JÜRGENS, A; JOHNSON, S; MEVE, U; DÖTTERL, S. *Ceropegia sandersonii* mimics attacked honeybees to attract kleptoparasitic flies for pollination. **Current. Biology**. v.26, n.20, pp.2787–2793, 2016.
- HIPPERSON, H; DUNNING, L. T; BAKER, W. J; BUTLIN, R. K; HUTTON, I; PAPADOPULOS, A; SMADJA, C. M; WILSON, T; DEVAUX, C; SAVOLAINEN, V. Ecological speciation in sympatric palms: 2. Pre- and post-zygotic isolation. **Journal of Evolutionary Biology**. v.29, n. 11, pp.2143–56, 2016.
- HOWELL, D. J. Time sharing and body partitioning in bat-plant pollination systems. **Nature**. v.270, n.5637, 1977.
- HUANG, S. Q; SHI, X. Q. Floral isolation in *Pedicularis*: how do congeners with shared pollinators minimize reproductive interference? **New Phytologist**. v.199, n.3, pp.858–865, 2013.
- HUANG, Z. H; LE LIU, H. L; HUANG, S-Q. Interspecific pollen transfer between two coflowering species was minimized by bumblebee fidelity and differential pollen placement on the bumblebee body. **Journal of Plant Ecology**. v.8, n.2, pp.109–115, 2015.
- JOHNSON, S. D; STEINER, K. E. Generalization versus specialization in plant pollination systems. **Trends Ecology Evolution**. v.15, n.4, pp.140–143, 2000.
- JOHNSON, A. L; ASHMAN, T. Consequences of invasion for pollen transfer and pollination revealed in a tropical island ecosystem. **New Phytologist**. v.221, n.1, pp.142–154, 2019.
- KAY, K. M; ZEPEDA, A. M; RAGUSO, R. A. Experimental sympatry reveals geographic variation in floral isolation by hawkmoths. **Annals of Botany**. v.123, n.2, pp.405–413, 2019.
- KYOGOKU, D. Reproductive interference: ecological and evolutionary consequences of interspecific promiscuity. **Population. Ecology**. v.57, n.2, pp.253–260, 2015.
- LANGLEY, C. M. Search images: selective attention to specific visual features of prey. **Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes**. v.22, n.2, pp.152–163, 1996.
- LAU, J. A; GALLOWAY, L. F. Effects of low-efficiency pollinators on plant fitness and floral trait evolution in *Campanula americana* (Campanulaceae). **Oecologia**. v.141, n.4, pp.577–583, 2004.
- LOCATELLI, E; MACHADO, I. C; MEDEIROS, P. Floral Biology and Bat Pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in Northeastern Brazil. **Bradleya**. v.15, pp.28–34, 1997.
- MACHADO, I. C. S; SAZIMA, I; SAZIMA, M. Bat pollination of the terrestrial herb *Irlbachia alata* (Gentianaceae) in northeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**. v.209, pp.231–237, 1998.

- MACHADO, I. C; LOPES, A. V. F. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. **Annals of Botany**. v.94, 365–376, 2004.
- MACHADO, I. C; VOGEL, S. The North-east-Brazilian liana, *Adenocalymma dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. **Annals of Botany**. v.93, pp.609–613, 2004.
- MALECORE, E. M; BERTHELOT, S; KLEUNEN, M. V; RAZANAJATOVO, M. Reciprocal heterospecific pollen interference among alien and native species. **Plant Ecology, Evolution and Systematics**. v.50, 125610, 2021.
- MINNAAR, C; ANDERSON, B; DE JAGER, M. L; KARRON, J. D. Plant–pollinator interactions along the pathway to paternity. **Annals of Botany**. v.123, n. 2, pp.225–245, 2019 a.
- MITCHELL, R. J; FLANAGAN, R. J; BROWN, B. J; WASER, N. M; KARRON, J. D. New frontiers in competition for pollination. **Annals of Botany**. v.103, n.9, pp.1403–1413, 2009.
- MORALES, C. L; TRAVESET, A. Interspecific Pollen Transfer: Magnitude, Prevalence and Consequences for Plant Fitness. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v.27, n.4, pp.221–238, 2008.
- MORÉ, M; SÉRSIC, A. N; COCUCCHI, A. A. Restriction of pollinator assemblage through flower length and width in three long-tongued hawkmoth-pollinated species of *Mandevilla* (Apocynaceae, Apocynoideae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v.94, n.2, pp.485–504, 2007.
- MOREIRA-HERNÁNDEZ, J. I; MUCHHALA, N. Importance of pollinator-mediated interspecific pollen transfer for angiosperm evolution. **Revisão Anual de Ecologia, Evolução e Sistemática**. v.50, n.1, 2019.
- MUCHHALA, N. Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* e *B. tenuiflora* (Campanulaceae). **Oecologia**. v.134, n.3, pp.373–380, 2003.
- _____. The pollination biology of *Busmeistera* (Campanulaceae): Specialization and syndromes. **American Journal Botany**. v.93, n.8, pp.1081–1089, 2006.
- _____. Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. **American Naturalist**. v.169, n.4, pp.494–504, 2007 a.
- _____. Functional significance of interspecific variation in *Busmeistera* flower morphology: evidence from nectar bat captures in Ecuador. **Biotropica**. v.40, n.3, pp.332–337, 2008.
- MUCHHALA, N, POTTS, M. D. Character displacement among bat-pollinated flowers of the genus *Burmeistera*: analysis of mechanism, process and pattern. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**. v.274, n.1626, pp.2731–2737, 2007 b.
- MUCHHALA, N, THOMSON, J. D. Going to great lengths: selection for long corolla tubes in an extremely specialized bat-flower mutualism. **Proceeding of the Royal Society B Biological Sciences**. v. 276, pp.2147–2152, 2009.
- MUCHHALA, N, THOMSON, J. D. Fur versus feathers: pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. **American Naturalist**. v.175, n.6, pp.717–726, 2010.

- MUCHHALA, N, BROWN, Z; ARMBRUSTER, W. S; POTTS, M. D. Competition drives specialization in pollination systems through costs to male fitness. **The American Naturalist**. v.176, n.6, pp.732–743, 2010.
- MUCHHALA, N; THOMSON, J. D. Interspecific competition in pollination systems: costs to male fitness via pollen misplacement. **Functional Ecology**. v.26, n.2, pp.476–482, 2012.
- NATALIS, L. C; WESSELINGH, R. A. Shared pollinators and pollen transfer dynamics in two hybridizing species, *Rhinanthus minor* and *R. angustifolius*. **Oecologia**. v.170, n.3, pp.709–721, 2012 a.
- OLLERTON, J; KILLICH, A., LARBORN, E; WATTS, S., WHISTON, M. Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. **Taxon**. v.56, n.3, pp.717–728, 2007.
- OLLERTON, J; ALARCÓN, R; WASER, N. M; PRICE, M. V; WATTS, S; CRANMER, L; HINGSTON, A; PETER, C. I; ROTENBERRY, J. A global test of the pollination syndrome hypothesis. **Annals of Botany**. v.103, n.9, pp.1471–1480, 2009.
- OPEDAL, Ø. H; LISTEMANN, J; ALBERTSEN, E; ARMBRUSTER, W. C. Multiple effects of drought on pollination and mating system traits in *Dalechampia scandals*. **International Journal of Plant Science**. v.177, n.8, 2016.
- PALACIOS, J. A. P; SOTERAS, F; COCUCCI, A. A. Mechanical fit between flower and pollinators in relation to realized precision and accuracy in the hummingbird pollinated *Dolichandra cynanchoides*. **Biological Journal of the Linnean Society, The Linnean Society of London**. v.126, n.4, pp.655–665, 2019.
- PAUDEL, B. R; BURD, M; SHRESTHA, M; DYER, A. G; LI, Q. J. Reproductive isolation in alpine gingers: how do coexisting *Roscoea* (*R. purpurea* and *R. tumjensis*) conserve species integrity? **Evolution**. v.72, n.9, pp.1840–1850, 2018.
- PERACCHI, A. L.; LIMA, I. P.; REIS, N. R.; NOGUEIRA, M. R.; ORTÊNCIO FILHO, H. Ordem Chiroptera. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina. pp.153– 230, 2006.
- PFENNING, D.W; PFENNING, K.S. Character displacement and the origins of diversity. **The American Naturalist**. 176 (Suppl 1): S26–S44, 2010.
- PONTES, C. A. S; DOMINGOS-MELO, A; MILET-PINHEIRO, P; NAVARRO, D. M. A. F; NADIA, T. L; MACHADO, I. C. Staminode of *Jacaranda rugosa* A.H. Gentry (Bignoniaceae) promotes functional specialization by ensuring signaling and mechanical fit to medium-sized bees. **Organisms Diversity & Evolution**. v.22, n.3, 2022.
- PYKE, G. H. Floral nectar: pollinator attraction or manipulation? **Trends in Ecology and Evolution**. v.31, n.5, pp.339–341, 2016.
- QUEIROZ, J. A; QUIRINO, Z. G. M; MACHADO, I. C. Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. **AoB PLANTS**. 7, plv127, 2015.

QUEIROZ, J. A; QUIRINO, Z. G. M; LOPES, A. V; MACHADO, I. C. Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. **Journal of Arid Environments**. v.125, pp.21–30, 2016.

QUEIROZ, J. A; DINIZ, U. M; VÁZQUEZ, D. P; QUIRINO, Z. M; SANTOS, F. A. R; MELLO, M. A. R; MACHADO, I. Bats and hawkmoths form mixed modules with flowering plants in a nocturnal interaction network. **Biotropica**. v.53, n.2, pp.596–607, 2020.

QUIRINO, Z. G. M; MACHADO, I. C. Pollination syndromes in a Caatinga plant community in northeastern Brazil: seasonal availability of floral resources in different plant growth habits. **Brazilian Journal of Biology**. v.74, n.1, 2014.

REAL, L. A; RATHCKE, B. J. Individual variation in nectar production and its effect on fitness in *Kalmia latifolia*. **Ecology**. v.72, n.1, pp.149–155, 1991.

RECH, A. R; ÁVILA JR, R. S; SCHLINDWEIN, C. Síndromes de polinização: especialização e generalização. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural, Rio de Janeiro, 1 ed., seção 3, pp.172–178, 2014.

RECH, A. R; WESTERKAMP, C. Biologia da polinização: uma síntese histórica. In: RECH, A. R; AGOSTINI, K; OLIVEIRA, P. E; MACHADO, I.C. (eds.). **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural, Rio de Janeiro, 1 ed., seção 3, pp.27–43, 2014.

REIS, N. R; PERACCHI, A. L; PEDRO, W. A; LIMA, I. P. (Eds.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina. 437p., 2006.

REIS, N. R; PERACCHI, A. L; PEDRO, W. A; DE LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. Ciências Biológicas, Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), 256p., 2007.

ROCHA, E. A; MACHADO, I. C; ZAPPI, D. C. Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in northeastern Brazil. **Bradleya**. v.25, pp.129–144, 2007.

ROCHA, E. A; DOMINGOS-MELO, A; ZAPPI, D. C; MACHADO, I. C. Reproductive biology of columnar cacti: are bats the only protagonists in the pollination of *Pilosocereus*, a typical chiropterophilous genus? **Folia Geobotânica**. v.254, n.3-4, pp.239–256, 2020.

ROSAS-GUERRERO, V; QUESADA, M; ARMBRUSTER, W. S; PÉREZ-BARRALES, R; SMITH, S.D. Influence of pollination specialization and breeding system on floral integration and phenotypic variation in *Ipomoea*. **Evolution**. v.65, n.2, pp.350–364, 2011.

SANTOS, F. D. S; DELGADO JÚNIOR, G. C; BÁEZ, M; PEDROSA-HARAND, A; QUEIROZ, J. A; QUIRINO, Z. G. M; MACHADO, I. C; BURIL, M. T. *Ipomoea vespertilia* (Convolvulaceae), a new species revealed by pollinator observation. **Brittonia**. v.71, n.2, pp.190–195, 2019.

SAZIMA, M.; BUZATO, S; SAZIMA, I. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. **Plant Systematics and Evolution**. v.191, pp.237–246, 1994.

- SCHIESTL, F. P; SCHLUTER, P. M. Floral isolation, specialized pollination, and pollinator behavior in orchids. **Annual Entomology Review**. v.54, n.1, pp.425–446, 2009.
- SILVA, J. M. C; LEAL, I. R; TABARELLI, M. Caatinga: The largest Tropical Dry Forest Region in South America. 1 ed. Springer International Publishing: **Springer Nature**. v.1, 487 p., 2017.
- SIMON, R; HOLDERIED, M. W; KOCH, C. U; VON HELVERSEN, O. Floral acoustics: conspicuous echoes of a dish-shaped leaf attract bat pollinators. **Science**. v.333, n.6042, pp.631–633, 2011.
- SIMON, R; MATT, F; SANTILLAN, V; TSCHAPKA, TUTTLE, M; HALFWERK, W. “An Ultrasound Absorbing Inflorescence Zone Enhances Echo-Acoustic Contrast of Bat-Pollinated Cactus Flowers.” **Journal of Experimental Biology**. v.226, n.5, jeb245263, 2023.
- SIMÓN-PORCAR, V. I; MEAGHER, T. R; ARROYO, J. Disassortative mating prevails in style-dimorphic *Narcissus papyraceus* despite low reciprocity and compatibility of morphs. **Evolution**. v.69, n.9, pp.2276–2288, 2015.
- SLETVOLD, N; AGREN, J. Nonadditive effects of floral display and spur length on reproductive success in a deceptive orchid. **Ecology**. v.92, n.2, pp.2167–2174, 2011.
- SLETVOLD, N. The context dependence of pollinator-mediated selection in natural populations. **International Journal of Plants Sciences**. v.180, n.9, pp.934–943, 2019.
- SMITH-RAMIREZ, C; ARMESTO, J. J; FIGUEROA, J. Flowering fruiting and seed germination in Chilean rain forest *Myrtaceae*: ecological and phylogenetic constraints. **Plant Ecology**. v.136, n.2, pp.119–131, 1998.
- STEBBINS, G. L. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms: pollination mechanisms. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v.1, pp.307–326, 1970.
- STEWART, A. B; DUDASH, M. R. Differential pollen placement on an Old World nectar bat increases pollination efficiency. **Annals of Botany**. v.117, n.1, pp.145–152, 2016 a.
- STEWART, A. B; DUDASH, M. R. Field evidence of strong differential pollen placement by Old World bat pollinated plants. **Annals of Botany**. v.119, n.1, pp.73–79, 2017 a.
- STEWART, A. B; DUDASH, M. R. Flower-visiting bat species contribute unequally towards agricultural pollination ecosystem services in southern Thailand. **Biotropica**. v.49, pp.239–248, 2017 b.
- STREHER, N. S; BERGAMO, P. J; ASHMAN, T; WOLOWSKI, M; SAZIMA, M. Effect of heterospecific pollen deposition on pollen tube growth depends on the phylogenetic relatedness between donor and recipient. **AoB PLANTS**. v.12, n.4, 2020.
- TAKAHASHI, Y; TAKAKURA, K. I; KAWATA, M. Spatial distribution of flower color induced by interspecific sexual interaction. **PLoS ONE**. v.11, n.10, 2016.

TEIXEIRA, R. C. **Partilha de polinizadores por espécies quiropterófilas em um fragmento de Cerrado, São Paulo**. Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 118p., 2010.

TEMELES, E. J; MAZZOTTA, A. R; WILLIAMSON, A. Resource partitioning by color in a tropical hummingbird. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. v.71, n.8, pp.129, 2017.

THOMSON, J. D. When is it mutualism? **American Naturalist**. v.162, n.4, S1–S9, 2003.

TRAVIS, D; KOHN, J. Comparing levels of geitonogamous visitation by honey bees and other pollinators. **Journal of Pollination Ecology**. v. 35, pp.170–179, 2023.

TREVISAN, R; CARDOSO, J. C. F; COELHO, C. P; CONSOLARO, H; FURTADO, M. T; OLIVEIRA, P. E. Inaccuracy patterns and precise pollination among distylous *Palicourea* and *Psychotria* (Rubiaceae). **Plant Ecology, Evolution and Systematics**. v.53, 125645, 2021.

TSCHAPKA, M. Energy density patterns of nectar resources permit coexistence within a guild of Neotropical flower-visiting bats. **Journal of Zoology**. v.263, n.1, 2004.

TSCHAPKA, M; DRESSLER, S. Chiropterophily: on bat-flowers and flower-bats. **Curtis's Botanical Magazine**. v.19, n.2, pp.114–125, 2002.

TUR, C; SÁEZ, A; TRAVESET, A; AIZEN, M. A. Evaluating the effects of pollinator-mediated interactions using pollen transfer networks: evidence of widespread facilitation in south Andean plant communities. **Ecology Letters**. v.19, n.5, pp.576–586, 2016.

VÁZQUEZ, D. P; AIZEN, M. A. Asymmetric specialization: A pervasive feature of plant-pollinator interactions. **Ecology**. v.85, n.5, pp.1251–1257, 2004.

VOGEL, S; MACHADO, I. C; LOPES, A. V. *Harpochilus neesianus* and other novel cases of chiropterophily in neotropical Acanthaceae. **Taxon**. v.53, pp.55–60, 2004.

VOGEL, S; LOPES, A. V; MACHADO, I. C. Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii*: an unusual case and first report for the genus. **Táxon**. v.54, pp.693–700, 2005.

VON HELVERSEN, O; WINTER, Y. Glossophagine bats and their flowers: costs and benefits for plants and pollinators. In: **Bat Ecology**. (eds. KUNZ, T. H; FENTON, M. B). Chicago, Illinois, The University of Chicago Press. pp.346–397, 798p., 2003.

VON HELVERSEN, D; VON HELVERSEN O. Acoustic guide in bat-pollinated flower. **Nature**. v.398, pp.759–760, 1999.

WASER, N. M; CHITTKA, L; PRICE, M. V; WILLIAMS, N. M; OLLERTON, J. Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology**. v.77, n.4, pp.1043–1060, 1996.

WEBER, M. G; CACHO, N. I; PHAN, M. J. Q; DISBROW, C; RAMIREZ, S. R; STRAUSS, S. Y. The evolution of floral signals in relation to range overlap in a clade of California Jewelflowers (*Streptanthus* s.l.). **Evolution**. v.72, n.4, pp.798–807, 2018.

WILLMER, P. **Pollination and floral ecology**. Princeton; Oxford: Princeton University Press, 828 p., 2011.

WINTER, Y; VON HELVERSEN, O. Bats as pollinators: foraging energetics and floral. In: **Cognitive ecology of pollination: Animal behaviour and floral evolution** (eds. CHITTKA, L; THOMSON, J). Cambridge University Press. pp.148–170, 360p., 2005.

WILCOCK, C; NEILAND, R. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. **Trends in Plant Science**, v.7, n.6, pp.270–277, 2002.

WILSON, P; THOMSON, J.D. How do flowers diverge? In: LLOYD, D. G; BARRET, S. C. H. (eds). Springer, Boston, MA. **Floral biology**. pp.88–111, 1996.

WRIGHT, J. S. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence. **Oecologia**. v.130, pp.1–14, 2002.

ZENTALL, T. R. Selective and divided attention in animals. **Behavioural Processes**. v.69, n.1, pp.1–15, 2005.

ZHANG, J-J, MONTGOMERY, B. R; HUANG; S-Q. Evidence for asymmetrical hybridization despite pre- and post-pollination reproductive barriers between two *Silene* species. **AoB PLANTS**. 8:plw032, 2016.