



00381 6  
2ej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Biología de *Bdallophytum bambusorum*  
Liebm. (Rafflesiaceae)**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

**P R E S E N T A**

**JOSE GUADALUPE GARCIA-FRANCO**

**Director de Tesis**

**Dr. Victor Rico-Gray**

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORDEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**A LETY, ERIC Y DANIEL  
(MI ADORADA ESPOSA Y MIS MARAVILLOSOS HIJOS)**

**QUE ME HAN APOYADO SIEMPRE,  
ME HAN DADO SU CARIÑO Y  
POR SU PACIENCIA**

**A MI MAMÁ Y HERMANOS  
POR SU EJEMPLO,  
APOYO Y CARIÑO**

## AGRADECIMIENTOS

Es difícil enlistar (y recordar) los nombres de todas las personas que contribuyeron para la culminación de esta tesis. Para evitar ese conflicto, en primer lugar quiero expresar mi agradecimiento a todas y cada una de las personas que de una u otra forma colaboraron, apoyaron, sufrieron conmigo y me incentivaron para que concluyera esta parte importante de mi formación profesional. Posteriormente, agradezco particularmente a algunas personas su colaboración.

Agradezco a los Drs. Rodolfo Dirzo, Carlos Vázquez-Yanes, Luis E. Eguiarte y Víctor Rico-Gray por haber aceptado formar mi comité tutorial y contribuir sustancialmente en el desarrollo de la tesis.

Particularmente, al Doc. por aceptar la dirección de la tesis, su ejemplo profesional, sus múltiples enseñanzas (dentro y fuera de la biología) y su invaluable amistad.

A los Drs. Carlos Montaña, Jorge Meave del Castillo, Héctor Hernández y Elena Alvarez-Buylla por hacerme explorar algunos aspectos del parasitismo que no había considerado; además, por hacerme reflexionar que ésta tesis no es el final del camino de mi formación académica y que aún me faltan muchas cosas por aprender.

A los Drs. Carlos Vázquez-Yanes, Rodolfo Dirzo, Víctor Rico-Gray, Luis E. Eguiarte, Teresa Terrazas, Carlos Montaña y Ken Oyama que aceptaron ser los sinodales del examen; por la revisión de la tesis, sus acertados comentarios y sugerencias las cuales mejoraron sustancialmente esta tesis. Sin embargo, cualquier falta o imprecisión que se encuentre es entera responsabilidad de quien escribe estas líneas.

A mis amigos Mónica, Nisao, Marisa, Alejandro, Meli, Jorge (L-P), Gaby (Vázquez), Lupe (W), Gregg, Lamberto, Ale. Rosario, y muchos más, su apoyo y estímulo durante diversas etapas del trabajo.

Al personal del Depto. de Hongos por compartir mi locura durante la ruptura de testa de varias semillas (8), y ayudarme a tratar de mantener y desarrollar las plántulas en diferentes medios de cultivo.

A la Dra. Gabriela Heredia (Gaby) por el desvío de sus recursos y su valioso tiempo, así como su ayuda en la preparación de los medios de cultivo y sembrado en los experimentos de germinación de las semillas.

Al Dr. Andrés Vovides y al Biol. Carlos Iglesias, primero por permitirme el uso del Laboratorio de Biosistemática Vegetal para procesar y preparación de las muestras en el estudio de anatomía y citología; y segundo, por haberme "coucheado" durante el trabajo del laboratorio.

A la Dra. Teresa Terrazas por su asesoría y ayuda en la ratificación (y rectificación) de mi interpretación anatómica de las raíces parasitadas y no parasitadas.

A los Drs. Valeria Souza y Luis Eguiarte por enseñarme el como y el cuando de la electroforesis en acetato de celulosa, por permitirme hacer la "alquimia" en su laboratorio del Centro de Ecología, UNAM, por su gran paciencia, asesoría y su amistad y apoyo.

A la Dra. Patricia Moreno-Casasola por el apoyo oficial durante su ejercicio como Jefe del Departamento de Ecología Vegetal; pero además por su apoyo personal y su amistad.

Al personal de La Mancha (ahora CICOLMA), Enrique, Tacho y el Gordo, por su amistad, colaboración y su excelente hospitalidad durante mis múltiples estancias en La Mancha para realizar el trabajo de campo.

Muchas Gracias

## INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
PRESENTACIÓN.....	iii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. AREA DE ESTUDIO Y ESPECIES ESTUDIADAS.....	7
CAPÍTULO 3. DISTRIBUTION AND SPECIFICITY IN THE HOLOPARASITE <u>Bdallophyton bambusarum</u> LIEBM. (RAFFLESACEAE) IN A TROPICAL DECIDUOUS FOREST IN VERACRUZ, MEXICO.....	21
CAPÍTULO 4. REPRODUCTIVE BIOLOGY OF THE HOLOPARASITIC ENDOPHYTE <u>Bdallophyton bambusarum</u> LIEBM. (RAFFLESACEAE).....	28
CAPÍTULO 5. POPULATION GENETICS OF THE TROPICAL HOLOPARASITIC ENDOPHYTE <u>Bdallophyton bambusarum</u> LIEBM. (RAFFLESACEAE).....	44
CAPÍTULO 6. DISPERSIÓN, VIABILIDAD, GERMINACIÓN Y BANCO DE SEMILLAS DE <u>Bdallophyton bambusarum</u> (RAFFLESACEAE) EN LA COSTA DE VERACRUZ, MÉXICO.....	67
CAPÍTULO 7. OBSERVACIONES DEL SISTEMA ENDOFITO Y LA CITOLOGÍA DE <u>Bdallophyton bambusarum</u> LIEBM. (RAFFLESACEAE).....	82
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES GENERALES.....	97
APÉNDICES.....	101

## RESUMEN

Las holoparasitas endófitas (plantas sin tallos y hojas, solo conspicuas cuando emergen las flores del cuerpo del hospedero) no han sido estudiadas con detalle, siendo desconocidos casi todos los aspectos de su biología. En este trabajo se estudió la biología de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) en la selva mediana subcaducifolia del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA), Veracruz, México (19° 36' N, 96° 22' W; elevación < 50 msnm). Particularmente, a) distribución y especificidad del hospedero, b) biología reproductiva (fenología, características de las estructuras reproductivas, polinización), c) algunos aspectos de genética de poblaciones (variabilidad genética, similitud entre subpoblaciones, flujo génico), d) dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas, y e) observaciones sobre el sistema endófito y su citología. Se registraron 22 subpoblaciones de *B. bambusarum*, siempre asociadas a raíces de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. Las estructuras reproductivas se producen regularmente en áreas con inflorescencias masculinas y femeninas mezcladas y en sitios donde solo se presenta un sexo, lo que sugiere que la parásita es perenne o tiene algún mecanismo de clonación. Las condiciones del suelo de la selva mediana influyen en la distribución de la parásita, presentándose en sitios donde las raíces son más superficiales y abundantes, lo que tal vez incrementa la posibilidad de que las semillas alcancen las raíces del hospedero y que las inflorescencias puedan emerger a la superficie. El pico de floración se presenta durante la época seca (diciembre-febrero) y los frutos se desarrollan de marzo a abril. Aparentemente, la parásita utiliza las sustancias promotoras de la floración del hospedero, ya que sus picos de floración se traslapan. Por otro lado, la producción de frutos no se ve limitada por recursos, ya que puede obtener lo necesario del hospedero. Las inflorescencias masculinas presentan mayor número de flores, y éstas son más grandes que las femeninas. Las flores producen néctar, y los polinizadores (*Peckia* spp. y *Oxysarcodexia* spp.: Diptera) las visitan frecuentemente durante la mañana. Las moscas mueven el polen dentro de las subpoblaciones, y los valores de vecindad genética y tamaño efectivo son pequeños, sugiriendo que las subpoblaciones son panmícticas. Sin embargo, se registró movimiento de polen entre subpoblaciones, lo que se refleja en la similitud genética entre ellas. Por otro lado, el análisis de isozimas mostró que en las subpoblaciones estudiadas casi cada inflorescencia es un genotipo, indicando que, la especie sí es dióica (ya que podría ser monoica) y que la población es genéticamente muy variable. Las semillas son dispersadas por ratones y hormigas, y se encuentran en el banco de semillas, pero únicamente en los sitios donde se presentan las inflorescencias de *B. bambusarum* (de cualquier sexo). La viabilidad de las semillas no pudo ser determinada por los métodos convencionales. Aunque después de un gran número de experimentos se logró germinar un reducido número de semillas, las condiciones reales para su germinación son desconocidas, y pueden estar relacionadas con estímulos químicos provenientes del hospedero en algún determinado momento de su desarrollo. La comparación entre raíces no parasitadas y parasitadas indica que el talo vegetativo de *B. bambusarum* se encuentra cercano al xilema secundario, pero, además, provoca en las raíces parasitadas un incremento en la densidad de los haces vasculares y una reducción importante de su diámetro. El desarrollo de las estructuras reproductivas de la parásita (inflorescencias) provoca un alineamiento geotrópico negativo de los radios y un nuevo cambio en la densidad y el tamaño de los haces vasculares. Estas modificaciones son semejantes a las observadas en otras parásitas. El número de cromosomas es de 10-12, lo cual es parecido a otras especies de holoparasitas.

## ABSTRACT

Holoparasite endophytic plants (without stems and leaves, and conspicuous only when their flowers emerge out the host's body) have not been studied specifically, and almost all aspects of their biology are unknown. In this work the biology of *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) was studied in the suddeciduous tropical forest at La Mancha Coastal Center of Research (CICOLMA), Veracruz, México (19° 36' N, 96° 22' W; elevation < 50 m). Particularly, a) distribution and host specificity, b) reproductive biology (phenology, characteristics of reproductive structures, pollination), c) some aspects of the population genetics (genetic variability, genetic similarity among subpopulations, genetic flow), d) dispersion, viability, germination and seed bank, and e) observations of the endophyte system and cytology. Twenty two subpopulations were found, always associated to roots of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. Reproductive structures were regularly produced in areas with female and male inflorescences, and in sites with only of either one sex. This suggests that the parasite is perennial or it has some clonal mechanism. Soil condition present on the forest influence the parasite distribution, it appears that in sites where roots are more superficial, the chance of seeds of reach the roots and that inflorescences might emerge on the ground increases. Flowering peak is during the dry season (December-February), and fruits develop from March to April. Apparently, the parasite uses the host's flowering substances, because their flowering peak are superposed. On another hand, fruit production is not limited by resources, the parasite can obtain all that it needs from the host. Male flower number per inflorescence and male flower size are bigger than female. Flowers produce nectar and pollinators (*Peckia* spp. and *Perckyamia* spp.: Diptera) visit them frequently during the morning. Flies moved the pollen within subpopulations, and neighborhood and effective size values were small, suggesting that subpopulations are panmictic. However, pollen movement among subpopulations was registered, as genetic similarity has showed too. On the another hand, the isozime analysis indicated that almost each inflorescence is a genotype on the subpopulations studied, showing that the species is dioecious (it could be monoecious), and a high genetic variability within subpopulations. Seeds are dispersed by mice and ants, and they are present in the soil seed bank, but only close to the sites with inflorescences (any sex). Seed viability was not determined. After different experiments only a low number of seed broke the seed test. Germination conditions are still unknown, but it could be related to chemical stimuli from the host's roots in a particular stage of development. Comparison between parasited and nonparasited roots shows that the endophyte system of *B. bambusarum* is near to the secondary xylem, and it produces an increment on the vessel density and reduction in their diameter. Roots with inflorescences in developing stage show changes on the vessel density and diameter. In other parasitic species, host's tissues present similar characteristics. Chromosomal number was 10-12, similar to other holoparasitic species.

## PRESENTACIÓN

La tesis está compuesta por ocho capítulos. En el Capítulo 1 se mencionan algunas generalidades del parasitismo por angiospermas, algunos aspectos de la familia Rafflesiaceae y se presentan los objetivos del trabajo. En el Capítulo 2 se describe el área donde se desarrolló el trabajo de campo y se mencionan las características taxonómicas de la especie de parásita estudiada y de su hospedero. Del Capítulo 3 al Capítulo 7 están comprendidos los diferentes estudios desarrollados para conocer la biología de *Bdallophyton bambusarum*, preparados como manuscritos siguiendo las instrucciones para los contribuidores de diferentes revistas (nombre de las revistas entre paréntesis). En el Capítulo 3 se estudió la especificidad de la parásita y algunas características que determinan su presencia (*Biotropica*, aceptado). El Capítulo 4 corresponde al conocimiento de la biología reproductiva (fenología, polinizadores, movimiento de polen) (*Botanical Journal of the Linnean Society*, en revisión). En el Capítulo 5 se hace referencia a la genética de poblaciones de la parásita (*American Journal of Botany*). La dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas se apunta en el Capítulo 6 (*Revista de Biología Tropical*, en revisión). Aspectos sobre la anatomía, modificaciones en el tejidos del hospedero y el número cromosómico de la parásita se presentan en el Capítulo 7 (*IAWA Journal*). Por último, en el Capítulo 8 se presentan las conclusiones generales. Se incluye una sección de Apéndices con algunos datos y figuras que no están considerados en los capítulos.



## **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

## GENERALIDADES SOBRE EL PARASITISMO

Los parásitos son aquellas especies que obtienen sus recursos alimenticios de los cuerpos vivos de otras especies, estando asociados gran parte o toda la vida con un individuo, causando reducción en la sobrevivencia o reproducción del hospedero (Price, 1977; Thompson, 1982). Bajo esta definición se pueden incluir desde insectos herbívoros (v.gr. depredadores de semillas y minadores) y parasitoides, hasta microbios patógenos y, abarcar, tanto ecto- como endo-parásitos (Price et al., 1986). También se pueden incluir las relaciones plantas-hongos (v.gr. royas) y las interacciones de parasitismo entre plantas vasculares. En las relaciones entre planta-planta, el intercambio de nutrientes se puede realizar a través de un puente fisiológico que une a la planta parásita con la planta hospedera, por medio de una estructura especializada conocida como haustorio (Kuijt, 1969), o puede ser indirectamente a través de un hongo micorrízico (Price et al., 1986).

Las interacciones entre organismos donde la asociación es de un permanente contacto físico, realizándose un movimiento unilateral o bilateral de sustancias con una producción de metabolitos que no son formados por ninguno de los organismos en forma separada, y donde notablemente se incrementa la amplitud ecológica y la adecuación de los participantes, se llaman simbiosis (Scott, 1969; Barret, 1983; May y Anderson, 1983). En este tipo de asociaciones se incluyen las relaciones de micorrizas ó líquenes.

Las plantas parásitas vasculares crecen en todas las latitudes, desde las regiones polares hasta el ecuador; la mayoría de las comunidades contienen al menos una especie de planta parásita (Press y Graves, 1989). Se reconocen en Gimnospermae y Angiospermae entre 2,500 y 3,000 especies de 142 ó 143-172 géneros y 16-27 familias de plantas que son al menos parcialmente parásitas (Gómez, 1983a; Press, 1989) (Tabla 1). Dentro de las angiospermas es una forma de vida no muy común, aunque es un fenómeno amplio que ocurre entre plantas no relacionadas (Fineran, 1962). Además del número de especies señalado anteriormente, existen más de 400 especies de angiospermas aclorófilas que son epiparásitas a través de hongos micorrízicos (Price et al., 1986). Las epiparásitas se encuentran entre las Angiospermas en las familias Burmanniaceae, Gentianaceae, Liliaceae, Orchidaceae, Polygalaceae, Pyrolaceae y Triuridaceae (Furman et al., 1971), y también en Pteridophyta (*Lycopodium*, *Ophioglossum*) y en la hepática *Crysothallus mirabilis* (Harley y Smith, 1983).

Se reconocen dos tipos de plantas parásitas en angiospermas, aunque realmente la distinción solo es hecha en los extremos (Stewart y Press, 1990). a) Hemiparásitas, cuando las plantas poseen tallos, hojas (y a veces raíces) y cuentan con clorofila realizando fotosíntesis, por lo que son parcialmente autótrofas (v.gr. *Phoradendron* y *Castilleja*) y, b) Holoparásitas, cuando las plantas carecen de clorofila (y a veces de hojas, tallos y raíces) y únicamente asimilan nutrientes de sus hospederos, por lo que son completamente heterótrofas (v.gr. *Cuscuta* y *Ombrophytum*) (Stewart y Press, 1991).

Tabla 1. Número de taxa de parásitas en Gimnospermae y Angiospermae de acuerdo con Gómez (1983a) y Press (1989). (los datos corresponden al No. de géneros/No. de especies).

Taxon		Tipo de Parásita	
		Hemiparásitas	Holoparásitas
Gymnospermas	Podocarpaceae	1/1	
Angiospermas	Rosales		
	Krameriaceae	1/15	
	Santalales		
	Olacaceae-Opiliaceae	5/22	
	Myzodendraceae	1/10	
	Santalaceae	30/400	2/10
	Loranthaceae	35/1000	?/3
	Eremolepidaceae	3/10	
	Balanophorales		
	Balanophoraceae		18/100
	Myrtales		
	Cynomoriaceae		1/1
	Aristolochiales		
	Rafflesiaceae		8/60
	Mitrastemonaceae		1/2
	Hydnoraceae		8/?
	Laurales		
	Lauraceae	1/30	
	Ericales		
	Lennoaceae		3/4
	Tubiflorales		
	Convolvulaceae (Cuscutaceae)		1/80-100
	Scrophulariaceae	10/ca.500	6/50-60
	Orabonachaceae	8/ca.150	2-3/?

Las hemiparásitas pueden ser parásitas de tallos, como los muérdagos *Viscum album* L. y *Phoradendron serotinum* (Rafin.) M.C. Johnston (Loranthaceae) de Europa y América del Norte, respectivamente (Kuijt, 1969), y de raíces, como *Pedicularis canadensis* L. y *Orthocarpus purpurascens* Benth. (Scrophulariaceae) (Piehl, 1963; Press, 1989). En algunas ocasiones, las parásitas pueden llegar a ser verdaderas plagas y causar graves daños y pérdidas en especies de importancia económica, maderables y/o comestibles (Press y Graves, 1989).

Las holoparásitas también pueden ser parásitas de tallos y de raíces, y pueden ser exófitas o endófitas. Por ejemplo, *Cuscuta* es un género holoparásito exófito de tallos, mientras que *Pilosyles* es un género holoparásito endófito de tallos (Kuijt, 1969). Varias familias contienen algunos representantes holoparásitos exófitos de raíces, como Scrophulariaceae, Santalaceae; mientras que, otras, son completamente holoparásitas

endófitas de raíces, como Balanophoraceae, Hydnoraceae y Rafflesiaceae (Kuijt, 1969). En esta última familia, las plantas han alcanzado la forma más extrema de evolución, careciendo de todos los órganos (hojas, tallos y raíces) (Press, 1989); estando formadas únicamente por células parecidas a micelio que conforman el sistema del haustorio y las flores para la reproducción (Kuijt, 1969; Walter, 1971).

Existe un gran número de estudios sobre las plantas parásitas, aunque la mayoría de los trabajos se han realizado en especies hemiparásitas exófitas y algunas holoparásitas endófitas (v.gr. Malcolm, 1966; Dawson et al., 1990; Calder y Bernhardt, 1983; Piehl, 1963; Fineran, 1962; Mauseth et al., 1984), abarcando un buen número de familias pero principalmente Loranthaceae y Viscaceae. Otros grupos como Rafflesiaceae son poco conocidos (Beaman et al., 1988).

#### GENERALIDADES SOBRE LA FAMILIA RAFFLESACEAE

La familia Rafflesiaceae es casi enteramente tropical, siendo la mayoría de las especies parásitas de las raíces de sus plantas hospederas (Kuijt, 1969). Existe una gran cantidad de trabajos sobre exploración, taxonomía y biología de algunas especies de Rafflesiaceae (Meijer, 1989); sin embargo, la mayoría son descriptivos y anecdóticos, y se han realizado pocos estudios específicos formales. Por ejemplo, debido a su naturaleza endófito no se conoce claramente como es la situación poblacional de las especies parásitas de raíces (estructura, demografía, etc.) y, en muchos casos, sólo se tienen suposiciones de lo que debe de ocurrir a nivel poblacional. Por ejemplo, Kuijt (1969) menciona que para *Pilosyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae) la gran masa de flores que aparece a lo largo de una limitada proporción del hospedero se puede considerar como un individuo. Eso podría ser válido en especies hermafroditas; sin embargo, algunas especies presentan flores masculinas y flores femeninas, por lo que se considera que la mayoría de las especies son dióicas (Kuijt, 1969). Esto hace que la situación real genet-ramet en las poblaciones permanezca desconocida.

La polinización de las Rafflesiaceae interesó a los primeros observadores que consideraron a las moscas como los polinizadores por el olor a carroña de las flores (Kuijt, 1969). Beaman y sus colaboradores (1988) observaron que moscas de los géneros *Lucila* y *Chrysomya* (Diptera) son los polinizadores de *Rafflesia pricei* Meijer. Sin embargo, el reducido número de flores encontradas en muchas de las especies no ha permitido conocer aún mucho de los sistemas reproductivos, y, como se ha anotado, pocos son los trabajos específicos que se han realizado.

Las semillas de las Rafflesiaceae son extremadamente pequeñas y se desconocen los mecanismos de dispersión (Kuijt, 1969; Meijer, 1985). Se ha sugerido que las hormigas y termitas rompen los frutos de algunas especies llevándose las semillas (Kuijt, 1969); que las ratas acarrearán las semillas de *Pilosyles* (Kummerow, 1962; en Kuijt, 1969), o que las aves comen los frutos de algunas especies de *Pilosyles* (Ule, 1915; en Kuijt, 1969). Asimismo,

no se conoce nada sobre la germinación y la manera en la cual el parásito se introduce en el hospedero (Kuijt, 1969), ni sobre la especificidad de la relación parasítica; si es que se presenta en algún caso. No obstante, Ule (1915, en Kuijt, 1969) sugiere al respecto, que las semillas vaciadas por las aves pueden germinar en el suelo, formar un micelio y alcanzar un hospedero apropiado.

En México se presentan varias especies de angiospermas parásitas de las familias Loranthaceae, Orobanchaceae, Convolvulaceae y Rafflesiaceae. Esta última familia está representada por cuatro géneros, *Apodanthes*, *Pilostyles*, *Mitrastemon* y *Bdallophyton*. A la fecha, únicamente se ha estudiado la anatomía y citología de *Pilostyles thurberi* Gray, especie que se distribuye en el desierto de Sonora (Rutherford, 1970); por lo que la mayoría de los aspectos de su biología y, todos los aspectos del resto de especies de la familia, permanecen desconocidos.

El género *Bdallophyton* se distribuye en la costa del Pacífico y del Golfo de México, principalmente en bosques secos, y generalmente se le asocia con especies arbóreas del género *Bursera* (Burseraceae). En la selva mediana subcaducifolia del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (anteriormente Estación Biológica La Mancha) se presentan diversas poblaciones de *Bdallophyton bambusarum* (Liebm.) Harms [= *B. americanum* (R. Br.) Harms; Gómez, 1983b] (Rafflesiaceae), regularmente ubicadas en la cercanía de individuos de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae). Aunque *B. simaruba* se distribuye en toda la selva mediana, las poblaciones de *B. bambusarum* sólo se presentan relativamente cercanas en una zona de la selva mediana subcaducifolia, y en forma aislada, en una pequeña extensión de selva en el sistema de dunas semimóviles de CICOLMA. Por otro lado, la gran cantidad de inflorescencias de *B. bambusarum* presentes en algunos periodos del año, son visitadas por varias especies de insectos. Los frutos se desarrollan en gran cantidad y algunos son consumidos por la fauna de la selva.

#### OBJETIVO

El objetivo general del presente trabajo fue conocer algunos aspectos de la biología de la holoparásita endófitra tropical *Bdallophyton bambusarum* (Liebm) Harms (Rafflesiaceae), particularmente: a) Su distribución espacial en la selva mediana subcaducifolia del CICOLMA y los factores abióticos y bióticos que la determinan (como la especificidad por alguna especie de hospedero) (Capítulo 3); b) Entender la biología reproductiva (fenología, características de las estructuras reproductivas, polinizadores, recompensa, movimiento de polen) (Capítulo 4); c) Conocer algunos aspectos de la genética de poblaciones (estructura genética, individualidad, vecindad genética y tamaño efectivo de la población) (Capítulo 5); d) Estudiar la dispersión, viabilidad, y germinación de las semillas (Capítulo 6) y, e) Conocer algunos características de la anatomía y citología de la especie (Capítulo 7).

## BIBLIOGRAFÍA

- Barret, J. A. 1983. Plant-fungus symbiosis. In: D. J. Futuyma y M. Slatkin (eds.), *Coevolution*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Beaman, R. S., P. J. Decker y J. H. Beaman. 1988. Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* 75:1148-1162.
- Calder M. y P. Bernhardt. 1983. *The biology of mistletoes*. Academic Press, Sidney.
- Dawson, T. E., J. R. Ehleringer y J. D. Marshall. 1990. Sex-ratio and reproductive variation in the mistletoe *Phoradendron juniperinum* (Viscaceae). *American Journal of Botany* 77: 584-589.
- Fineran, B. A. 1962. Studies on the root parasitism of *Exocarpos bidwillii* Hook. F.- I. Ecology and root structure of the parasite. *Phytomorphology* 12:339-355.
- Furman, T. E. y J. M. Trappe. 1971. Phylogeny and ecology of micotrophic achlorophyllous angiosperms. *Quarter Review in Biology* 46:214-225.
- Gómez, L. D. 1983a. Parasitic plants. in: D. H. Janzen (ed.), *Costa Rican Natural History*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Harley, J. L. y S. E. Smith, 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London.
- Kuijt, J. 1969. *The biology of parasitic flowering plants*. University of California Press. Berkeley and Los Angeles.
- Malcom, W. N. 1966. Root parasitism of *Castilleja coccinea*. *Ecology* 47:179-186.
- May, R. M. y R. M. Anderson. 1983. Parasite-host coevolution. In: D. J. Futuyma y M. Slatkin (eds.), *Coevolution*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro y A. M. Walckowiak. 1984. Studies of the holoparasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) infecting *Trichocereus chilensis* (Cactaceae). *Canadian Journal of Botany* 62:847-857.
- Meijer, W. 1989. Bibliography on the exploration, taxonomy, and biology of Rafflesiaceae. Manuscrito (incédito).
- Piehl, M. A. 1963. Mode of attachment, haustorium structure, and hosts of *Pedicularis canadensis*. *American Journal of Botany* 50:978-985.
- Press, M. C. y J. Graves. 1989. Punishment for suckers. *New Scientist* 123(1680):55-58.
- Press, M. C. 1989. Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology and Evolution* 4:258-263.
- Price, P. W. 1977. General concepts on the evolutionary biology of parasites. *Evolution* 31:405-420.
- Price, P. W., M. Westoby, B. Price, P. R. Atsatt, R. S. Fritz, J. N. Thompson y K. Mobley. 1986. Parasite mediation in ecological interactions. *Annual Review in Ecology and Systematics* 17:487-505.
- Scott, G. D. 1969. *Plant symbiosis*. The Institute of Biology's Studies in Biology No. 16. Edward Arnold. Southampton.
- Stewart, G. R. y M. C. Press. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41:127-151.
- Thompson, J. N. 1982. *Interaction and Coevolution*. Wiley-Interscience. New York.
- Walter, H. 1971. Ecology of tropical and subtropical vegetation. Oliver & Boyd. Edinburgh. pp. 138-139.

## **CAPÍTULO 2. AREA DE ESTUDIO Y ESPECIES ESTUDIADAS**

## AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la parte del bosque tropical deciduo (selva mediana subcaducifolia) que se encuentra en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) del Instituto de Ecología, A.C., ubicada en el municipio de Actopan, al centro del estado de Veracruz, México (anteriormente Estación Biológica La Mancha) (Figura 1). El CICOLMA se localiza en la costa del estado de Veracruz (19° 36' N, 96° 22' W) y presenta una elevación que va de menos de 5 m.s.n.m. hasta los 50 m.s.n.m. (Novelo, 1978). El clima es cálido subhúmedo (Aw<sup>2</sup>) con precipitación anual de 1,100-1,500 mm, siendo la temporada de mayor precipitación entre junio y septiembre, y un promedio de temperatura entre 22°-26°C, con un mínimo de 10°C y un máximo de 38°C (Novelo, 1978; Moreno-Casasola, 1982). En la Figura 2 se presenta un climograma construido con los datos de los últimos 10 años recabados en la estación meteorológica ubicada en CICOLMA.

En el CICOLMA se presentan varios tipos de vegetación: selva mediana subcaducifolia, selva baja caducifolia, matorral de dunas costero y manglar (Moreno-Casasola et al., 1982; Novelo, 1978; Rico-Gray y Lot, 1983). La selva mediana subcaducifolia es relativamente simple en estructura y composición, con especies de árboles de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burceraceae), *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (Leguminales), *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), *Ficus cotinifolia* H.B.K. (Moraceae), y arbustos como *Nectandra coriacea* (Sw.) Griseb. (Lauraceae) y *Coccoloba barbadensis* Jacq. (Polygonaceae) (Blain y Kellman, 1991; Ramírez-Ramírez y García-Guzmán, 1990). Las epífitas no son muy diversas pero son relativamente abundantes en los matorrales de dunas (García-Franco, 1995); por el contrario, en la selva mediana, no están muy bien representadas (García-Franco, J.G. obs. pers.). Este grupo de plantas está representado por *Tillandsia concolor* L.B. Smith, *T. caput-medusae* E. Morren, *T. ionantha* Planchon (Bromeliaceae), *Schomburgkia tibicinis* Batem., *Brassavola cucullata* (L.) R.Br. y *B. nodosa* (L.) Lindl. (Orchidaceae); se pueden encontrar Polypodaceae; así como *Spathyphyllum cochlearispathum* (Liebm.) Engl. (Araceae) que es una hierba trepadora (J.G. García-Franco, obs. pers.).

El suelo en CICOLMA está constituido por acumulaciones de arena que conforman dunas fijas, semimóviles y móviles. La cercanía del mar confiere otras características como aspersión salina provocada por la brisa marina y fenómenos estacionales característicos de las costas del Golfo de México, tales como inundaciones, mareas altas, ciclones, tormentas y los nortes (Martínez y Valverde, 1992). Además, la topografía cambiante, como resultado de la movilidad de las dunas, propicia condiciones deshidratantes (baja retención de humedad) y escasez de nutrientes en el suelo que se agrava con la rápida infiltración de la materia orgánica (Torres, 1995).



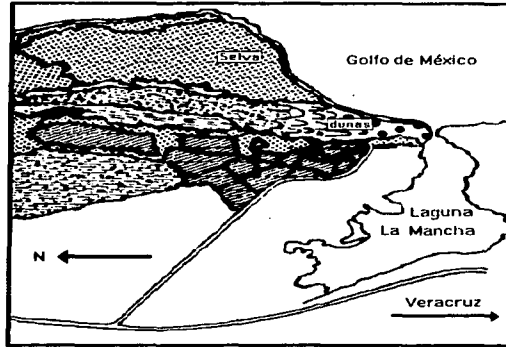


Figura 1. Localización del área de estudio. Centro de Investigaciones Costeras La Mancha, CICOLMA. (modificado de Moreno-Casasola, 1982).

La selva mediana subcaducifolia se encuentra establecida en diferentes suelos arenosos: dunas fósiles que por sus características sugieren una edad del glacial tardío, y dunas recientes, con edad de no más de pocos siglos (Kellman y Roulet, 1990). Las características edáficas han sido descritas por Kellman (1990). Las partículas del tamaño de arena comprenden el 95% del suelo de la duna reciente, pero éstas se reducen a 70-80% en la duna fósil donde una formación considerable de arcilla ha ocurrido. El pH del suelo en la duna reciente es alcalino (7.8-8.5), pero aproximadamente neutral en la duna fósil (6.9-7.1). La capacidad de intercambio catiónico varía de 3 a 12 mmol 100 g<sup>-1</sup> en la duna reciente, dependiendo del contenido de carbono orgánico; y de 20 a 33 mmol 100 g<sup>-1</sup> en la duna fósil (correlacionado con el contenido de arcilla,  $r^2 = 0.05$ ,  $P < 0.05$ ). El nitrógeno total en el suelo se incrementa a través de la sucesión y está cercanamente correlacionado con el C orgánico ( $r^2 = 0.94$ ,  $P < 0.05$ ). Los cationes intercambiables están dominados por Ca en la duna reciente, mientras que en la duna fósil Mg y K son sustancialmente altos. Un análisis de los elementos totales de Ca, Mg, K, Na y P (M. Kellman, datos no publicados; en Kellman y Roulet, 1990) indican que los suelos de la duna fósil han experimentado una

pérdida neta de Ca, Mg y P durante el intemperismo, pero no una pérdida neta de K y P (Kellman y Roulet 1990). Las tasas de infiltración de agua en el suelo son altas, tanto en la duna reciente como en la fósil (Kellman y Roulet, 1990).

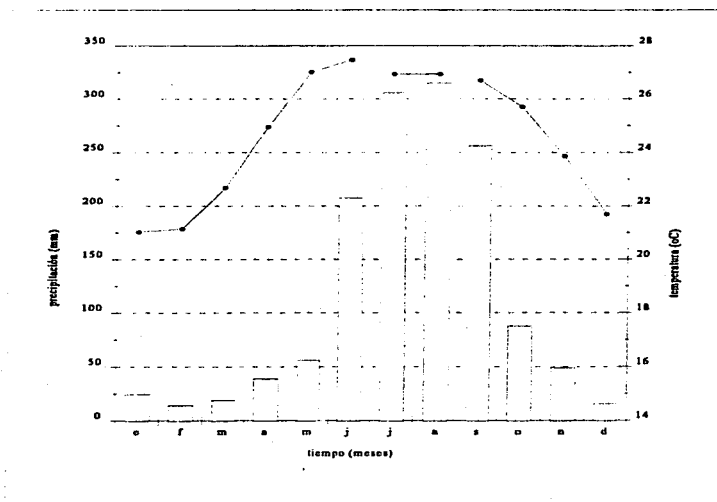


Figura 2. Climograma del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (datos promedio de siete años de registros).

Las características del suelo influyen en la distribución de las especies de plantas en el bosque, en los valores de importancia presentados por éstas, y en su crecimiento y reproducción (Blain y Kellman, 1991; Kellman y Roulet, 1990; García-Franco y Rico-Gray, 1995; F. Ramírez-Ramírez y G. García-Guzmán, datos no publicados). En La Mancha existe un fuerte contraste entre las especies con mayor densidad (individuos/ha) y mayor valor de importancia en la selva joven y en la selva vieja. Dentro de las 12 especies de árboles que presentan una mayor densidad y un mayor valor de importancia en la selva vieja están: *Nectandra coriacea* (densidad 130; valor de importancia 10.5); *Bursera simaruba* (38;

8.3); *Ficus cotinifolia* (3; 7.5); *Phylanthus nobilis* (L.F.) Muell. Arg. (Euphorbiaceae) (83; 7.4) y *Brosimum alicastrum* (20; 7.0). Mientras que entre las 11 especies de la selva joven más abundantes y con mayor valor de importancia están: *Coccoloba barbadensis* (140; 12.4); *Eugenia acapulcensis* Steudel (Myrtaceae) (163; 11.9); *Nectandra coriacea* (107; 8.9) y *Karwinskia humboldtiana* (Roemer & Schultes) Zucc. (Rhamnaceae) (74; 6.7) y *Brosimum alicastrum* (8; 5.7) (F. Ramírez-Ramírez y G. García-Guzmán, datos no publicados).

#### UBICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN DE LA FAMILIA RAFFLESIACEAE

La familia Rafflesiaceae ha sido ubicada taxonómicamente en diferentes órdenes y, aparentemente, no hay un acuerdo en su ubicación. Lawrence (1989) separa el Orden Aristolochiales, en el cual incluye Aristolochiaceae, Hydnoraceae y Rafflesiaceae. Gómez (1983a) en ese mismo Orden incluye Rafflesiaceae, Mitrastemonaceae e Hydnoraceae. En cambio Heywood (1978) y Cronquist (1981) consideran la existencia del Orden Rafflesiales. Para Cronquist (1981) la relación de Rafflesiaceae es disputada y dudosa. Estas plantas tradicionalmente han sido asociadas con las Aristolochiaceae, presumiblemente porque tienen una vaga similaridad en el perianto; sin embargo, los dos grupos son muy diferentes en otros aspectos. Las Rafflesiaceae son altamente especializadas y pueden tener una larga historia de parasitismo y evolución en la reducción de sus órganos vegetativos, lo cual no se conoce en las Aristolochiaceae. Las células de aceite etéreo de las Aristolochiaceae y de otras Magnoliales están ausentes en las Rafflesiaceae. Miembros sincárpicos de las Aristolochiaceae tienen placentación axilar, mientras que en las Rafflesiales la placentación es parietal o algunas veces apical o altamente modificada (Cronquist, 1981).

El Orden Rafflesiales (*sensu* Cronquist, 1981) comprende hierbas parásitas carnosas sin clorofila, muy reducidas vegetativamente y modificadas, a veces con sólo las flores o las inflorescencias emergiendo del hospedero. Las hojas son muy reducidas y parecidas a escamas, o no están presentes. Las flores o botones compactos de flores surgiendo endógenamente del hospedero o endógenamente de una raíz como rizoma. Las flores van de pequeñas a muy grandes (de unos centímetros a más de 70 cm), generalmente carnosas, comúnmente malolientes, entomófilas (a veces Cantarófilas), regulares, mono-periantadas, perfectas o unisexuales, de hipóginas a epíginas, tépalos de 3-5, o algunas veces más o menos numerosos (aparentemente por divisiones), a veces conadas hacia la base; androceo variadamente modificado, nunca o siempre, de tipo ordinario; granos de polen lisos, variadamente monosulcados, disulcados, triaperturados, o derivados del tipo triaperturados; ginocceo de 3 o más carpelos unidos para formar un pistilo compuesto, éste típicamente unilocular pero a veces con placentas profundamente entremetidas, algunas veces irregularmente multiloculadas; óvulos muy numerosos anátropos a mas frecuentemente ortótropo, bitegmico o unitegmico, tenue-unicelular, o escasamente diferenciado de la placenta, excepto como sacos embrionarios. Frutos frecuentemente carnosos, semillas muy

numerosas y pequeñas, con una testa dura y un pequeño embrión indiferenciado rodeado por endospermo. algunas veces también con perispermo (Cronquist, 1981).

Por su parte, la Familia Rafflesiaceae comprende plantas carnosas sin clorofila, endoparásitas de raíces y ramas de varios hospederos; sólo las flores o un corto tallo floral son exsertas (Figura 2); el cuerpo vegetativo taloide es muy disectado y largamente filamentososo, pareciendo el micelio de un hongo, penetrando en los tejidos del hospedero y algunas veces extendiéndose dentro del meristemo apical; los renuevos florales cortos, carnosos, taníferos, son originados endógenamente de tejidos indiferenciados del parásito dentro del hospedero y, emergiendo endógenamente del hospedero, terminando en una flor simple o en una corta espiga carnosas. El renuevo en las formas menos reducidas con un sistema vascular vestigial; los plástidos de los tubos-tamiz carecen tanto de proteínas como de almidón. Las hojas son reducidas, parecidas a escamas presentes en el tallo floral o alrededor de la base de la flor solitaria, usualmente verticiladas, algunas veces opuestas o alternas, sin estomas normales. Las flores son algunas veces pequeñas (como en *Cytinus*) y parcialmente encajadas en el eje carnosos de la inflorescencia, pero más frecuentemente son grandes o muy grandes y levantadas individualmente (como en *Rafflesia arnoldii* R. Br. que pueden alcanzar hasta 1 m de diámetro, Beaman et al. 1988), son comúnmente carnosas, frecuentemente malolientes y coloreadas brillantemente, unisexuales o raramente perfectas, mono-periantada. Los sépalos son usualmente 4 ó 5, algunas veces sobre 10 y a veces más, frecuentemente connados abajo para formar un tubo imbricado o raramente valvado, petaloide o no. Los estambres en flores estaminadas de 5 a numerosos, connados con filamentos dentro de un tubo-columna, de la cual las anteras originan uno o varios ciclos. La columna estilar en las especies de flores grandes expandida sobre las anteras para formar frecuentemente un disco grande y complejo, con anteras sésiles en las formas menos modificadas tetrasporangiadas, ditecas, y abriendo por hendiduras longitudinales, pero en otros monotecas o irregularmente politecas y abriendo por hendiduras transversales o un poro apical. Granos de polen binucleados, 3 (4) colporados, ó 2-3 porados o inaperturados, no esculpturados. Flores pistiladas epíginas o semi-epíginas con 4-8 carpelos unidos para formar un compuesto, el ovario es infero o medianamente infero coronado por una fuerte columna estilar que es distalmente expandida dentro de un disco frecuentemente grande y complejo. El ovario es variadamente unilocular y con un número limitado de placentas parietales, con los óvulos cubriendo por completo la pared interna, o con tantas como 8-14 más o menos profundamente incluídas, algunas veces con placentas parietales ramificadas que aguantan los óvulos cubriendo la mayoría de su superficie, o irregularmente multilocular con los óvulos cubriendo las superficies de partición. Los óvulos son muy numerosos, anátropos a frecuentemente ortótropos, bitegmicos o unitegmicos tenui-nuclear; el desarrollo del endospermo nuclear o celular. Los frutos son indehiscentes o irregularmente dehiscentes, frecuentemente carnosos, algunas veces múltiples; las semillas son muy numerosas (comunmente en miles) y pequeñas con testa dura y un embrión poco

celulado indiferenciado rodeado por endospermo (N = 12 en *Cytinaceae*) (Cronquist, 1981; Lawrence, 1989; Standley y Steyermark, 1946b).

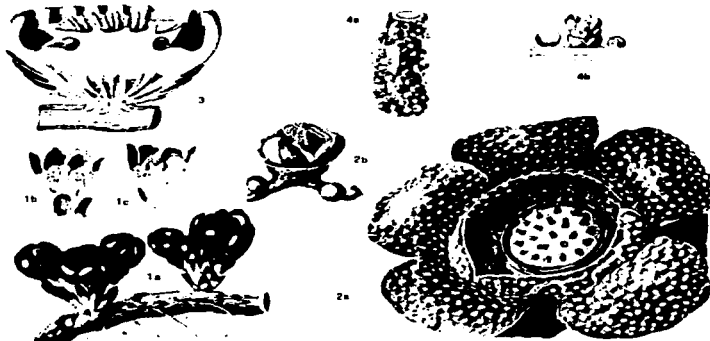


Figura 2. Algunas especies de la familia Rafflesiaceae. 1 *Cytinus sanguineus*: a) inflorescencias en la superficie del hospedero (x2/3), b) flor femenina (x2/3), c) flor masculina (x2/3). 2 *Rafflesia manillana*: a) flor femenina, b) botón floral. 3 Flor masculina de *R. patma* mostrando la conexión con el tejido del hospedero. 4 *Apodanthus welwitschii*: a) rama del hospedero con flores y botones florales, b) corte de la rama del hospedero con estructuras reproductivas. (Modificado de Heywood, 1990).

Cronquist (1981) considera que la familia está compuesta por siete géneros y quizás unas 50 especies, mientras que Lawrence (1989) registra siete géneros y 27 especies. Las especies de la Familia Rafflesiaceae se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales, pero aparentemente no son abundantes. Sólo unas pocas especies se encuentran en regiones templadas, como por ejemplo *Cytinus hypocistis* L., parásita en las raíces de las especies de Cistaceae en la región mediterránea. *Rafflesia arnoldii* R. Br. de Sumatra es famosa por tener la flor más grande del mundo, tanto como 1 m de diámetro. La mayoría de las especies se encuentran en el viejo mundo, pero *Apodanthes* se distribuye en Sudamérica y *Pilosyles* en México con dos especies, extendiéndose hacia la parte norte del país y Baja California. Las plantas no tienen importancia económica, pero algunas plantas han reducido su distribución natural por la reducción de su hábitat y por la colecta que realiza la gente local; especies como *R. kerri* son apreciadas como curiosidad para adornar las casas y porque les atribuyen propiedades medicinales (Heywood, 1990; Meijer y Elliot, 1990).

La Familia Rafflesiaceae se ha dividido en cuatro tribus de acuerdo a sus características y su distribución geográfica (Heywood, 1990; de Vattimo, 1972):

- Mitrastemoniae: flores bisexuales y solitarias, ovario súpero. Mitrastemon en el sureste de Asia y Centro América.
- Apodantheae: flores unisexuales y solitarias, pequeñas, estambres en 2 ó 4 anillos en la columna central, ovario infero con 4 placentas o una placenta continua. Apodanthes, Pilostyles, Berlinianche con distribución en América tropical, Africa tropical e Irán.
- Rafflesiaceae: flores unisexuales y solitarias grandes, estambres en un anillo, ovario infero con muchas cámaras irregulares. Rafflesia, Sapria, Rhizanthus en el sureste de Asia e India hasta Indonesia.
- Cytineae: flores unisexuales y en racimos, estambres en un anillo, ovario infero con 8-14 placentas. Cytinus, Bdallophyton para la región Mediterranea, Africa del Sur, Madagascar y México.

En México se han registrado las siguientes especies de la Familia Rafflesiaceae: Apodanthes globosa Watson, A. pringlei Watson, Pilostyles thurberi Gray, P. sessilis Rose, P. goyazensis Ule, P. mexicana (T.S. Brandege) Rose, Mitrastemon matudai Yam., Bdallophythum bambusarum Liebm., B. americanum (R.Br.) Harms, B. andrieuxii Eichl., B. oxylepis (Robinson) Harms (Rzedowski y Rzedowski, 1978; MEXU; XAL).

#### DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO BDALLOPHYTON.

Bdallophyton Eichler in Bot. Zeitung XXX (1872) 709, t 8A (como género de Balanophoraceae), in DC. Prodr. XVII. (1873) 301 colocado en Cytineae; Solms-Laubach in E.P. 1 Aufl. III. 1. (1889) 282 (Scitanthus Liebm. in Förh. Skandin. Naturf. 4. Möde 1844 (1847) 177; Solms-Laubach in Pflanzereich Heft 5 (1901) 17).

Flores hermafroditas o dióicas, sin brácteas, en espigas; perigonio súpero, cerrado por los lóbulos caulescentes, luego dividido en 5-9 lóbulos irregulares, campanulado, sin unión con la base de la columna. Anteras 8-10, casi paralelas, en el extremo de la columna, con conectivo acuminado-cuspidado u obtuso; polen unicelular. Estigma escuteliforme, radiado estriado, indistintamente lobado. Placentas simples, planas, 5-14. El nombre Scytanthus Liebm. no puede usarse, puesto que existe el nombre más antiguo Skytanthus Meyen (Reise I. (1834) 376) de las Apocinaceas y ambos nombres se consideran como variantes ortográficas con la misma derivación piel o cuero, flor. El nombre Bdallophyton se deriva de ordeñar.

El género Bdallophyton se distribuye ampliamente en México, en los estados de Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz; presentándose únicamente en vegetación tropical, como, selva mediana subcaducifolia, selva mediana subperennifolia, selva alta perennifolia, vegetación secundaria, matorral bajo espinoso, potrero, bosque en cañada, pero principalmente en selva baja caducifolia; y asociada en la mayoría de los casos a raíces de Bursera (datos derivados de ejemplares de los herbarios MEXU y XAL).

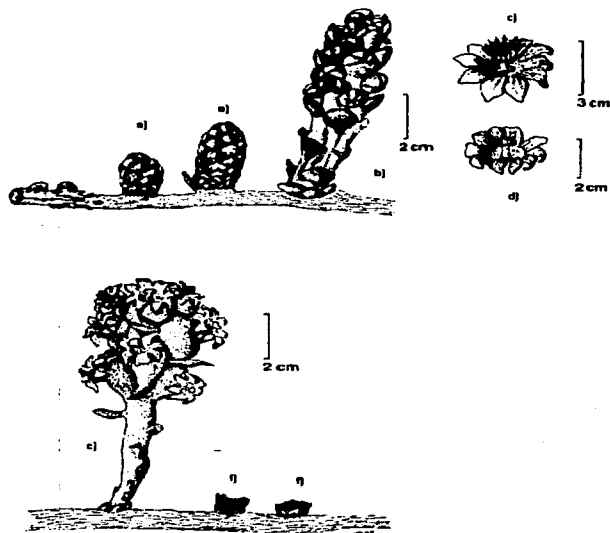


Figura 3 Estructuras reproductivas de Bdallophyton bambuserum. a) Botones florales, b) Inflorescencia desarrollada antes de la antesis, c) Flor masculina, d) Flor femenina, e) Infrutescencia, f) Cicatrices de floración en la raíz del hospedero. (dibujo M. Escamilla).

CLAVE PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS ESPECIES DE BDALLOPHYTON PRESENTES EN MÉXICO (tomada de Harms, 1935).

A.- Perigonio glabro por fuera.

Aa.- Conectivo de las anteras alesnado: B. americanum (R. Br.) Harms (Cytinus americanus R.Br. (1845) Solms-Laubach), en la provincia Huasteca; perigonio descrito ya como 3-5, ya como 8-9 lobulado.

Ab.- Conectivo como B. andrieuxii Eichl.

B.- Perigonio escamoso o granuloso por fuera. Frutos concrecentes.

Ba.- Flores hermafroditas. Anteras romas: B. oxylepis (Rob.) Harms (Cytinus oxylepis Robinson in Proc. Amer. Acad. XXIX (1894) 321) sobre las raíces de Bursera, en Zacatlán, Jalisco, en lava; frutos unidos entre si y con la base de las brácteas, formando una masa carnosa como en la piña; éstos sobresalen del extremo de las brácteas; flores hermafroditas y femeninas en la misma planta, perigonio 6 lobulado; estigma capitado-radiado, lobulado irregularmente.

Bb.- Flores dióicas. Conectivo rostrado B. bambusarum (Liebm.) Harms en bosques espesos de bambúes en Papantla y Paso del Correo, perigonio 7-8 lobulado, anteras 9, placentas 9, ovarios de las plantas femeninas unidos entre si por la base (Figura 3). Bdallophyton bambusarum se distribuye ampliamente en México, en bosques tropicales de las costas del Golfo y el Pacífico y en el centro del país.

La taxonomía del género no es clara. Como ya se mencionó, Harms (1935) considera que el género cuenta con cuatro especies, todas presentes en México. Meijer (1993) menciona la existencia de dos especies, ambas con distribución en Centro America. Mientras que Gómez (1983b) ha señalado que el género es monotípico. La especie estudiada es dióica, presenta el perigonio granular, con 8-9 lóbulos en las flores masculinas y 7-8 lóbulos en las flores femeninas, anteras 9, placentas 9 y frutos concrecentes. Estas características concuerdan con las mencionadas para Bdallophyton bambusarum por Harms (1935).

DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA Y GENERALIDADES DE BURSERIA SIMARUBA

Bursera simaruba (L.) Sarg. (Burseraceae) es un árbol generalmente de tamaño mediano a pequeño, aunque puede llegar a alcanzar los 25 m de altura o más, y algunas



veces un metro de diámetro en el tronco (Figura 4). La corteza externa es escamosa, la corteza joven de verde a café-verdosa, la corteza vieja de roja a café-rojizo oscuro. Hojas deciduas, dispuestas en espiral, imparipinnadas de 15 a 30 cm incluyendo el pecíolo, compuestas de 7 a 13 foliolos opuestos, ovado lanceolados u oblongos, con el margen entero. ápice largamente acuminado, base muy simétrica, truncada o aguda; pecíolo o peciólulos ovinados en la base; las hojas juvenes verde rojizas. La especie es monóica o dióica (aunque el género puede ser polígamo o hermafrodita), las panículas masculinas y femeninas son producidas lateralmente en los brotes nuevos, más cortas que las hojas, pedicelos de 3 a 5 mm de largo, flores ligeramente fragantes, actinomoríficas de 6 a 7 mm de diámetro; las panículas masculinas de 18 cm de largo glabras o densamente pubescentes, las flores de color verde-cremoso o rosado-cremoso con 8 ó 10 estambres de 2 a 3 mm de largo; las panículas femeninas de 12 cm de largo, hirsutas, estambres 6 de ca. 2 mm de largo, ovario súpero, trilobular con dos óvulos en cada lóculo, estilo corto y grueso, terminado en un robusto estigma trilobulado. El fruto es capsular trivalvado usualmente teñido de rojo, con sólo el exocarpio dehiscente; mesocarpio y endocarpio indehiscentes, con semillas triangulares de 8 mm. Florece de febrero a agosto y los frutos maduran de mayo a noviembre (Pennington y Sarukhán, 1968; Standley y Steyermark, 1946a).

La madera de *B. simaruba* es blanca y contiene mucha humedad, lo que impide su almacenamiento antes de aserrarla; aun así se utiliza en la fabricación de chapas, triplay y mangos de herramienta. Desde el punto de su aprovechamiento industrial el género ha sido estudiado por Chacón (1964), Van der Slooten y González (1971) y Echenique-Manrique (1970, en Silva, 1984). Sin embargo, su principal uso en México es como cerca viva (Pennington y Sarukhán, 1968; Rzedowski y Khruse, 1979).

*Bursera simaruba* se distribuye de Honduras hasta México (Standley y Steyermark 1946a). En México se le encuentra en la vertiente del Golfo desde Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Yucatán y Quintana Roo, y en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas (Pennington y Sarukhán, 1968). Se presenta como elemento primario o secundario en selvas altas y medianas, perennifolias y subcaducifolias; y en selvas bajas y medianas caducifolias (Pennington y Sarukhán, 1968; Rzedowski, 1978).

No existen en la literatura muchos estudios específicos sobre la anatomía de *Bursera simaruba*, sólo se cuenta con un estudio sobre las diferencias anatómicas del xilema y floema secundario del tallo, que se comparó con el de otras especies como caracter taxonómico (Stevenson, 1979). Sin embargo, se ha estudiado la anatomía de la madera de algunas otras especies del género. Silva (1984) estudió la anatomía del xilema secundario en tallo y raíz de *Bursera morelensis* Ramírez y *B. glabrifolia* (H.B.K.) Engl. Gómez-Vázquez y Engleman (1983) estudiaron la anatomía de la madera de *B. longipes* (Rose) Standley y *B. copallifera* (Sessé and Moc.) Bullock; posteriormente Gómez-Vázquez y Engleman (1984) estudiaron la anatomía de la corteza de esas mismas especies. Mientras que Suárez y

Engleman (1982) estudiaron los canales resiníferos de la corteza de B. copallifera y B. grandiflora (Schl.) Engl

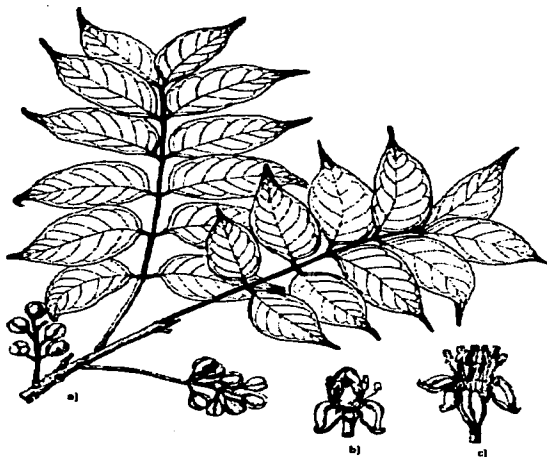


Figura 4. Esquema de Bursera simaruba. a) Rama con frutos, b) Flor femenina, c) Flor masculina. (Tomado de Pennington y Sarukhán, 1968).

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a M. Escamilla la elaboración del dibujo de Bdallophyton bambusarum en sus diferentes etapas de desarrollo.

#### BIBLIOGRAFÍA

Blain, D. y M. Kellman. 1991. Effect of water supply on tree seed germination and seedling survival in a tropical seasonal forest in Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 7: 69-83.

- Beaman, R. S., P. J. Decker y J. H. Beaman. 1988. Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* 75:1148-1162.
- Chacón, A. J. J. 1964. The characteristics of some forest species with regard to their use in the math industry. *Turrialba* 14:38-39.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York.
- de Vattimo, I. 1972. Rafflesiaceae. In: P. Raulino Reitz (ed.), *Flora Ilustrada Catarinense*. Conselho Nacional de Pesquisas, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Herbario Barbosa Rodrigues, Itajaí-Sta. Catarina-Brasil.
- García-Franco, J. G. 1995. Distribución de epífitas en los matorrales costeros de la Estación La Mancha, Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana*. (en revisión).
- García-Franco, J. G. y V. Rico-Gray. 1995. Population structure and clonal growth in *Bromelia pinguin* L. (Bromeliaceae) in dry forests of coastal Veracruz, Mexico. *Tulane Studies in Zoology and Botany* 30:27-37.
- Gómez, L. D. 1983. Parasitic plants. In: D. H. Janzen (ed.), *Costa Rican Natural History*. The University of Chicago Press. Chicago.
- Gómez, L. D. 1983b. Rafflesiaceae. In: w. Burger (ed.), *Flora Costaricensis*. *Fieldiana Botany* II, 13:89-93.
- Gómez-Vázquez, B. G. y E. M. Engleman. 1984. Bark anatomy of *Bursera longines* (rose) Standley and *Bursera copallifera* Sessé and Moc. Bullock. *IAWA Bull.* n.s. 5:120-123.
- Heywood, V. H. 1978. Flowering plants of the world. Oxford University Press. Oxford. 336 p.
- Kellman, M. 1990. Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, México. *Journal of Tropical Ecology* 6: 355-370.
- Kellman, M. y N. Roulet. 1990. Nutrient flux and retention in a tropical sand-dune succession. *Journal of Ecology* 78:664-676.
- Lawrence, G. H. H. 1989. Taxonomy of vascular plants. MacMillan. New York.
- Martínez, M. L. y M. T. Valverde. 1992. Las dunas costeras. *Ciencias (México)* 26:35-42.
- Meijer, W. 1993. Rafflesiaceae. In: K. Kubitzki (ed.), *The families and genera of vascular plants. II Flowering plants. Dicotyledons*. Springer-Verlag, Berlin.
- Meijer, W. y S. Elliot. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Natural History Bulletin Siam Society* 38: 117-133.
- Moreno-Casasola, P. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: Factores Físicos. *Biotica* 7:577-602.
- Moreno-Casasola, P., E. van der Maarel, S. Castillo, M. L. Huesca y I. Pisanty. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: estructura y composición en el Morro de la Mancha, Veracruz. *Biotica* 7: 491-526.
- Novelo, A.. 1978. La vegetación de la Estación Biológica El Morro de la Mancha, Veracruz. *Biotica* 3: 140-143.
- Pennington, T. D. J. Sarukhán. 1968. Árboles tropicales de México. INIF-SAG y FAO. México. D.F.
- Ramírez-Ramírez, F. y G. García-Guzmán. 1990. Estructura y composición florística de la selva costera en La Mancha, Ver. In *Sociedad Botánica de México, A.C.* (ed.), *Congreso Mexicano de Botánica, Programas y Resúmenes*, Oaxtepec, Morelos.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México, D.F.
- Rzedowski, J. y H. Kruse. 1979. Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). *Taxon* 28:117-132.
- Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski. 1978. Flora fanerogámica del Valle de México.
- Rico-Gray, V. y A. Lot-Helgueras. 1983. Producción de hojarasca del manglar de la Laguna de la Mancha, Veracruz, México. *Biotica* 8:295-301.
- Silva, G. L. 1984. Análisis de la anatomía del xilema secundario en el tallo y raíz de *Bursera morelensis* y *Bursera glabrifolia*. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Standley, P. C. Y J. A. Steyermark. 1964a. Burseraceae. in: P.C. Standley y J. A. Steyermark (eds.), *Flora de Guatemala*. *Fieldiana Botany* Vol. 24, Part IV. Chicago Natural History Museum.

- Standley, P. C. y J. A. Steyermark. 1964b. Rafflesiaceae. in: P.C. Standley y J. A. Steyermark (eds.), Flora de Guatemala. Fieldiana Botany Vol. 24, Part IV, Chicago Natural History Museum.
- Stevenson, D. W. M. 1979. Systematic anatomy of Bahamian species of Bursera (Burseraceae). Journal of Arnold Arboretum 60:163-165.
- Suárez, R. G. y E. M. Engelman. 1982. Estudios de los canales resiníferos de la corteza de Bursera copallifera y Bursera grandifolia. Boletín de la Sociedad Botánica de México 42:41-54.
- Torres, H. L. 1995. Efecto de diferentes especies de hormiga sobre el éxito reproductivo de Turnera ulmifolia (Turneraceae). Tesis de Maestría. Fac. Ciencias. UNAM.
- Van der Slooten, H. J. y M. E. González. 1971. Maderas Latinoamericanas IV. Bursera simaruba, Poulsenia armata, Pterocarpus officinalis y Ficus werckleana. Turrialba 21:69-76.

**CAPÍTULO 3. DISTRIBUTION AND SPECIFICITY IN THE HOLOPARASITE  
BDALLOPHYTON BAMBUSARUM LIEBM. (RAFFLESIACEAE) IN A  
TROPICAL DECIDUOUS FOREST IN VERACRUZ, MEXICO.**

DISTRIBUTION AND HOST SPECIFICITY IN THE HOLOPARASITE  
*Bdallophyton bambusarum* (RAFFLESiaceae) IN A TROPICAL  
DECIDUOUS FOREST IN VERACRUZ, MEXICO

**Key words:** Distribution, host specificity, holoparasites, *Bdallophyton bambusarum*, *Bursera simaruba*, tropical deciduous forest, Veracruz, Mexico

The distribution of parasitic plants is determined by host specificity, range of the host or hosts, and environmental conditions affecting the distribution of the parasite itself. Some parasitic genera or species or ecological races of species, are always found on the same genus or species of hosts, others are less choosy or they may have developed ecological races which are associated with different host species or races (M. Meijer com. pers.). For example, *Arceuthobium pendens* Hawks. & Wiens (Loranthaceae), has a close relationship with *Pinus cembroides* Zucc. (Pinaceae) (Cházaro & Oliva 1988), and depends on the distribution of the host and on its own environmental limitations. On the other hand, *Struthanthus quercicola* (Schlecht. & Cham.) Blume (Loranthaceae) has been associated to 33 host species (Cházaro & Oliva 1988), resulting in a wider distribution. The distribution and host specificity of many parasitic plants are incompletely known. In holoparasites (e.g. Rafflesiaceae) no vegetative structures (stems or leaves) are present outside the host; visible structures are only found when flowers are produced (Kuijt 1969; but see Meijer & Elliott 1990). The species in the genus *Bdallophyton* Eichler (Rafflesiaceae) are root parasites distributed in Mexico, Guatemala, and Costa Rica (Gómez 1983, Heywood 1993, Meijer 1993). The taxonomy of the genus is inadequately known; Meijer (1993) indicates two species for Central America, Harms (1935) mentions four species, all present in Mexico, and Gómez (1983) considers the genus as monotypic. In Mexico *Bdallophyton bambusarum* (Liebm.) Harms (= *B. americanum* (R. Br.) Harms; Gómez 1983) is mainly distributed in tropical dry forests in Central Mexico and along of the coasts of the Pacific Ocean and Gulf of Mexico. This species is parasitic on the roots of Burseraceae (Gómez 1983). Based on herbarium specimens (MEXU, XAL), *B. bambusarum* is associated in Mexico to *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae) or to undetermined *Bursera* sp. specimens (García-Franco & Rico-Gray unpubl. data). As part of a study of the biology of *Bdallophyton bambusarum*, we studied the distribution and host specificity of this species at Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) in Veracruz, Mexico (19° 36' N, 96° 22' W; elevation < 50 m). The climate of this area is highly seasonal (Rico-Gray 1993) with a short rainy season (June-September). Several vegetation associations are present: tropical deciduous forest, tropical dry forest, sand dune matorral and mangrove forest (Moreno-Casasola et al. 1982, Novelo 1978, Rico-Gray & Lot 1983). The tropical deciduous forest grows on sandy soil of different ages: fossil dunes with a possible Late Glacial age ('old selva'), and recent sand with a possible age of less than a few centuries

('young selva') (see Kellman 1990, and Kellman and Roulet 1990, for detailed characteristics).

Biweekly field observations were made between September, 1991 and January, 1994. We visited all vegetation associations searching for reproductive structures of *B. bambusarum* (i.e. buds, and fresh or dry inflorescences and infructescences). We recorded all places where groups of inflorescences of the parasite were present, and these clumps were considered a population. In each population we carefully checked and identified the roots where the parasite was attached to. Host determinations were based on external root characteristics (bark color and exfoliation). We excavated in the surroundings of 400 inflorescences (both sexes) selected at random from 10 populations of *B. bambusarum*. In order to learn what characteristics could be influencing the presence of the parasite, we measured the diameter of the parasited roots in two populations. When root divisions were present, their diameter was also recorded. Soil samples for analyses (pH, carbon, organic matter, % nitrogen, % clay, % lime, % fine sand, and texture) were taken in five populations, six samples per site, three in places with the parasite and three in places without the parasite. The spatial distribution pattern of the host was also obtained.

We found 22 populations of *B. bambusarum* in CICOLMA. Twenty-one in the area known as 'old selva' within deciduous forest (*sensu* Kellman 1990) and one in a late-successional sand dune matorral (*sensu* Moreno et al. 1982). In all populations of the parasite we observed inflorescences and fruits year around. Once the inflorescence dies, a mark is left on the host's root ('floral scar'). We observed 49 groups in 18 populations with a mixture of male and female inflorescences (sometimes one sex was more abundant) (Figure 1a). We never found male and female inflorescences in the same root. We also observed in 15 populations (some populations with both sexes) groups of inflorescences with only one sex present (19 female groups and 17 male groups). In the latter, the presence of one sex was constant throughout the study; even in groups with only male inflorescences. Some inflorescences developed beside floral scars, while others developed in 'healthy roots'. In all populations, and in 100% of the excavations, *B. bambusarum* was found associated to roots of *Bursera simaruba* (Figure 1b) (roots present the bark color and exfoliation pattern characteristic of the adult stems and branches). Parasited roots had a diameter of  $0.55 \pm 0.26$  cm ( $n = 159$ , range 0.15-1.5), and scars were found up to a depth of 10 cm (Figure 1b). *Bursera simaruba* has a density of 10.19 ind/ha in the 'old selva', and has a random spatial distribution pattern ( $R = 1.06$ ,  $K = 0.83$ ,  $P < 0.01$ ; Clark & Evans 1954). We did not find significant differences (Mann-Whitney U,  $P > 0.05$ ) in soil characteristics between areas with and without *B. bambusarum*.

The presence of reproductive structures of *B. bambusarum* only on *B. simaruba* roots, indicates that the former species is an obligatory parasite of *B. simaruba* in the study area. The continuous development of inflorescences of *B. bambusarum* in all groups within the populations surveyed, suggests that the parasite is perennial or that it has some means of clonal reproduction; particularly, due to the continuous presence of groups of male

inflorescences. The development of parasitic inflorescences on 'healthy' *B. simaruba* roots, could be the result of: (i) Movement of the parasite within the host's roots; (ii) Growth of infested host's roots; and/or (iii) A new infectious process based on seed germination. The presence of *B. bambusarum* populations in certain areas of the tropical deciduous forest studied is not the result of a clumped spatial distribution pattern by the host, nor to differences in soil characteristics. It seems that other factors are influencing the distribution and host preference by the parasite; such as the distribution and phenology of *B. simaruba* roots. In the tropical deciduous forest at CICOLMA, nutrient release and infiltration is very fast during the rainy season (Kavanagh & Kellman 1992), resulting in a vertically differentiated nutrient distribution (Kellman & Roulet 1990), and a dense growth of fine roots in the superficial soil layers that will enable plants to capture more water and nutrients in this period (Kavanagh & Kellman 1992, Kellman 1990). There are more superficial roots in the 'old selva' than the 'young selva' (Kellman 1990) (Figura 1C). The root system of *Bursera simaruba* resembles the radicular model of *Alsonia boonei* (Jenik 1978); that is, the development of a root skeleton system near the soil surface, with short branches penetrating underground, and a substantial portion of the fine roots developed in the superficial organic matter. During peak flowering (December-February), pollen flow of *B. bambusarum* is high, plants produce great numbers of fruit and seeds (almost all female inflorescences produce fruits); the latter are dispersed at the onset of the rainy season (García-Franco & Rico-Gray unpubl. data). It seems that the presence in certain areas of a dense superficial root system (density and biomass), along with the presence of high seed numbers of the parasite, increases the possibility of contact between *B. bambusarum* and the infected and new roots of *B. simaruba*.

All *Bursera simaruba* individuals in the vicinity of *Bdallophyton bambusarum* populations are adult trees (seed and seedling predation on many species in this forest is very high. García-Franco et al. 1991), suggesting that *B. bambusarum* populations have been present for a long time associated to particular sites, repeatedly infecting a few *B. simaruba* individuals by means of perennation, clonation and/or the recruitment of new individuals through seed germination. During this study, two relatively close (4 m) *B. simaruba* trees died, and the associated *B. bambusarum* populations disappeared shortly after. All the above, suggests that the parasite-host relationship between *B. bambusarum* and *B. simaruba* is a obligatory, which seems to be common for many parasitic taxa (see Cházaro & Oliva 1988), and several genera of Rafflesiaceae (see Kuijt 1969, and Meijer 1993). Finally, future studies in other parts of the distribution of *B. bambusarum* may support the suggested host specificity on *B. simaruba*.

We wish to thank Rodolfo Dirzo and Carlos Vázquez-Yanes for their comments and suggestions to an earlier version of the manuscript. We also thank the comments and suggestions of two anonymous reviewers. Field work was partially supported by CONACYT grant (No. 903579) to VRG and the Instituto de Ecología, A.C. (No. 902-16).



- Cházaro, M., and H. Oliva. 1988. Loranthaceae del centro de Veracruz y zona limitrofe de Puebla. *Cact. Suc. Mex.* 33:71-75.
- Clark, P. J., and F. C. Evans. 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35:445-453.
- García-Franco, J. G., V. Rico-Gray, and O. Zayas. 1991. Seed and seedling predation of *Bromelia pinguin* L. by the red land crab *Gecarcinus lateralis* Frem. in Veracruz, Mexico. *Biotropica* 23:96-97.
- Gómez, L. D. 1983. Rafflesiaceae. In: W. Burger (Ed.). *Flora Costaricensis. Fieldiana Botany* 11, 13:89-93.
- Harms, H. 1935. Rafflesiaceae. In: A. Engler & K. Prantl (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, ed. 2, 16b: 243-281. Leipzig: Engelmann.
- Heywood, V. H. 1993. *Flowering plants of the world*. Oxford University Press, New York, New York.
- Jenik, J. 1978. Roots and root systems in tropical trees: morphologic and ecologic aspects. In: P. B. Tomlinson and M. H. Zimmermann (eds.). *Tropical trees as living systems*, pp. 323-349. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Kavanagh, T., and M. Kellman. 1992. Seasonal pattern of fine root proliferation in a tropical dry forest. *Biotropica* 24:157-370.
- Kellman, M. 1990. Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, Mexico. *J. Trop. Ecol.* 6:355-370.
- Kellman, M., and N. Roulet. 1990. Nutrient flux and retention in a tropical sand dune succession. *J. Ecol.* 78:664-676.
- Kuijt, J. 1969. *The biology of parasitic flowering plants*. University of California Press, Berkeley, California.
- Meijer, W. 1993. Rafflesiaceae. In: K. Kubitzki (ed.), *The families and genera of vascular plants. II Flowering plants. Dicotyledons*, pp. 557-563. Springer-Verlag, Berlin.
- Meijer, W., and S. Elliott. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam. Soc.* 38:117-133.
- Moreno-Casasola, P., E. van der Maarel, S. Castillo, M. L. Huesca, and I. Pisanty. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: estructura y composición en el Morro de la Mancha, Ver. I. *Biotica* 7:491-526.
- Novelo, A. 1978. La vegetación de la Estación Biológica El Morro de la Mancha, Veracruz. *Biotica* 3:9-23.
- Rico-Gray, V. 1993. Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. *Biotropica* 25:301-315.
- Rico-Gray, V., and A. Lot. 1983. Producción de hojarasca del manglar de la Laguna de la Mancha, Veracruz, México. *Biotica* 8:295-301.

José G. García-Franco and Victor Rico-Gray  
 Departamento de Ecología Vegetal  
 Instituto de Ecología, A.C.  
 Apdo. Postal 63, Xalapa, Ver. 91000 México

## FIGURE LEGEND

Figure 1. A. Group with a mixture of male (m) and female (f) inflorescences, and fruits (fr) of *Bdallophyton bambusarum*. B. Female inflorescence and flower buds in different stages of development. C. Superficial roots of *Bursera simaruba* in the 'old selva'.



**CAPITULO 4. REPRODUCTIVE BIOLOGY OF THE HOLOPARASITIC  
ENDOPHYTE *BDALLOPHYTON BAMBUSARUM* LIEBM.  
(RAFFLESIACEAE).**

Reproductive biology of the holoparasitic endophyte ***Bdallophyton bambusarum***  
(Rafflesiaceae)

José G. García-Franco\* and Víctor Rico-Gray

Departamento de Ecología Vegetal, Instituto de Ecología, A.C, Apartado Postal 63, Xalapa,  
Veracruz, 91000 México

\*To whom proofs should be sent

Running title: Reproductive biology of ***Bdallophyton bambusarum***

GARCÍA-FRANCO, J.G., RICO-GRAY, V. **Reproductive biology of the holoparasitic endophyte *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae).** The reproductive biology of most species of Rafflesiaceae is unknown. We studied several aspects of the reproductive biology of *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) in a subdeciduous tropical forest. Flowering peak of *B. bambusarum* occurs during the driest time of the year. Male flowers are numerous, larger, and with more nectar than females flowers, but the nectar from female flowers has a higher sugar concentration. Flies (*Peckia* spp., *Perckiamya* spp.; Diptera: Sarcophagidae) are the pollinators. They make frequent visits, spending more time in the male flowers. The movement of fluorescent dyes indicates great pollen flow within populations, and pollen flow could also be occurring between populations. The latter is reflected in the higher genetic variability within and the great similitude between populations, previously recorded for the species. Secondary characteristics of dioecious species fit *B. bambusarum* but not the trade-off of reproductive resource allocation. Parasitic plants damage the host tree but the mechanism is still unknown.

ADDITIONAL KEY WORDS:-sapromyophily - parasitic plants - subdeciduous tropical forest - *Bursera simaruba* - Mexico.

CONTENTS

Introduction . . . . .	.....
Study site and Species . . . . .	.....
Results . . . . .	.....
Discussion . . . . .	.....
Acknowledgements . . . . .	.....
References . . . . .	.....

## INTRODUCTION

Since the first species of Rafflesiaceae was discovered, carrion flies have been marked as pollinators of several species (Beaman et al., 1988; Faegri & van der Pijl, 1979; Gómez, 1983; Kuijt, 1969), labeling the family with sapromyofily syndrome (Faegri & van der Pijl, 1979). However, their characteristics as holoparasitic endophyte plants, with ephemeral flowering emerging of the host's bodies, have diffculted their study and few specific research has been done. Flowering season has been mentioned in Meijer & Elliot (1990), joining isolated data from *Rafflesia kerri* Meijer. Beaman et al. (1988), observed flies of *Lucila papuensis* Macquart (Calliphoridae) as pollinators of *Rafflesia pricei*, and Gómez (1983) indicated that *Bdallophyton americanum* (A. Br.) Harms is fly pollinated. Fly movement has been recorded for flowers of different species of *Rafflesia* (Beaman et al., 1988; Kuijt, 1969; Meijer & Elliot, 1990), but observations of pollen carriers have not been done, and the main characteristics of the pollination system are still unknown. We studied the reproductive biology of *Bdallophyton bambusarum* (Liebm) Harms (= *B. americanum* (R.Br.) Harms; Gómez, 1983) (Rafflesiaceae) in a tropical forest of Veracruz, Mexico. We report phenology, flower characteristics for both sexes, rewards, pollinators, and pollen flow within and among populations.

## STUDY SITE AND SPECIES

### Study Site

The study was done in a subdeciduous tropical forest at La Mancha Costal Research Center (CICOLMA) in the state of Veracruz, Mexico (19°36'N, 96°22'W, altitude <50 m). Climate is warm and subhumid with a mean temperature of 22°-26°C (10°C minimum and 38°C maximum) and rainy season between June and September (annual precipitation is 1100-1300 mm) (Moreno-Casasola, 1982). Several types of vegetation are present, subdeciduous tropical forest, tropical dry forest, sand dune matorral, and mangrove forest (Moreno-Casasola et al., 1982; Novelo, 1978; Rico-Gray & Lot-Helgueras, 1983). Subdeciduous tropical forest is established in a sandy soil of different ages, fossil dunes with a possible Late Glacial age, and recent sand with a possible age of less than a few centuries (Kellman, 1990; Kellman & Roulet, 1990). The main tree species, are *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae), *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (Leguminosae), *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), *Ficus cotinifolia* H.B.K. (Moraceae), and shrub species are *Nectandra coriacea* (Sw.) Griseb. (Lauraceae) and *Coccoloba barbadensis* Jacq. (Polygonaceae) (Blain & Kellman, 1991; Ramirez-Ramirez & García-Guzmán, 1990). Epiphytes are not abundant and are represented by species as *Tillandsia concolor* L.B. Smith, *T. caput-medusae* E. Morren, *T. ionantha* Planchon (Bromeliaceae), *Brassavola cucullata* (L.) R.Br., *B. nodosa* (L.) Lindl., *Schomburgkia tibicinis* Batem. (Orchidaceae), some species of Polypodaceae, and the climbing herb *Spathiphyllum cochlgarispatham* (Liebm.) Engl. (Araceae) (Ramirez-Ramirez, F. & García-Guzmán, J., unpublished. data; García-Franco, J.G., pers. obs.).

### Studied species

Bdallophyton bambusarum is a holoparasitic endophyte distributed in central Mexico and along the Mexican's coasts of the Pacific Ocean and Gulf of Mexico (García-Franco, 1996). It is distributed in the subdeciduous tropical forest at CICOLMA, specifically on roots of B. simaruba (García-Franco & Rico-Gray, 1995a). The population in CICOLMA have a particular distribution influenced by the growth phenology and architectural model of the roots of B. simaruba (García-Franco & Rico-Gray, 1995a). It is dioecious with high genetic variability ( $H = 0.439$ ) within populations; each inflorescence can be considered as an individual (García-Franco et al., 1996). Fruits produce many seeds, which are dispersed by Peromyscus mexicanus mexicanus (Rodentia: Muridae: Murinae) and ants of the genus Atta (Myrmicinae) (García-Franco & Rico-Gray, 1995b). After several germination tests, viability and germination requirements are still unknown (García-Franco & Rico-Gray, 1995b).

### METHOD

Between September 1991 and January 1994, every two weeks we counted floral buds, male and female inflorescences, and infrutescences present in five B. bambusarum populations. Data were pooled monthly and related to total precipitation and mean temperature data recorded during the study. In order to document similarities or differences between male and female reproductive characteristics, in a sample of inflorescences (male  $n = 63$ , female  $n = 70$ ) we counted flower number and measured corolla diameter of each flower (male  $n = 26$ , female  $n = 40$ ). In another sample of flowers (male  $n = 33$ , female  $n = 41$ ) we measured the length of staminal and stigmal columnnes, and the diameter of the corolla base.

In order to assess if B. bambusarum was agamosperous we bagged 28 female inflorescences with a fine mesh to avoid flying visitors, and we applied tanglefoot resin (The Tanglefoot Company) on the base of the inflorescences to exclude walking insects; other 28 female inflorescences remained unbagged. During two flowering seasons (1991 and 1993) we collected all species of flower visitors in two populations of B. bambusarum (one year in each population). We separated pollinators from visitors, the former carried pollen on their bodies and touched the reproductive structures in both types of flowers. Insect vouchers were deposited in Departamento de Biosistemática de Insectos, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Ver., Mexico, and Departamento de Entomología, Universidade Federal Do Rio de Janeiro, Museu Nacional, RJ., Brasil.

Pollinator behavior was studied in detail during two days (11-12 January, 1993) in a group of 13 male and 10 female inflorescences within a population of B. bambusarum; general observations were done throughout the study. We made observations each hour from 07:00 to 16:00. During 15 minutes we counted the number of insect visitors per

species. After, during other 15 minutes, we recorded for each pollinator species visiting time and number of flowers visited. We recorded air temperature data each hour with a Wesler laboratory thermometer (range  $-10^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$ ). Means of daily air temperature were not different between them (Chi-square,  $\chi^2 = 0.004$ ,  $P > 0.05$ ). In order to know if visitors obtain rewards from flowers, we covered two female and three male inflorescences with a fine mesh. After 24 h, accumulated liquid was extracted with microcapillary tubes and the sugar concentration was recorded with a hand refractometer (Bausch & Lomb, range 0-32%). This part of the study was done during two days.

Pollen flow within and among populations was recorded using fluorescent dyes as pollen mimics in the flowering season of 1994. Different colors of UV fluorescent dyes (USR Optonix, Inc.) (orange, green and red colors) were applied with a brush on three male inflorescences located at the center of one population. We also applied two different colors of dyes (blue and yellow) on two male inflorescences of two different populations, one located at a distance of 27 m and 30 m the studied population. Dyes were applied early in the morning and no disturbance was made during the day. The next morning, all inflorescences (both sexes) were collected individually in numbered paper bags. In the site of each inflorescence we placed a flag with the same reference number from the paper bag and we measured the distance between each flag and the three male inflorescences labeled with the first dyes. We observed carefully each inflorescence collected under a microscope using a UV light lamp (UVP, Inc. model UVL-21). We considered only the presence of dyes in the stigmal columns. In this section of the study we cutted all inflorescences present in the population and hence it only was done once.

## RESULTS

Floral buds of *B. bambusarum* developed abundantly immediately after the rainy season (October-November, Figure 1a), but some buds are destroyed by moth larvae. Flowering peak occurs at the beginning of the dry season (December-February), although inflorescences could be present year-round (Figure 1b). Sex ratio was male biased through the study (m/f,  $1.64 \pm 0.95$ ,  $x \pm \text{S.D.}$ ,  $n = 29$ ). Fruit development starts at mid-dry season (Figure 1a). Floral bud development is not related to either precipitation or temperature (Spearman rank correlation,  $r_s = -0.038$  and  $r_s = -0.144$ ,  $P > 0.05$ , respectively; SigmaStat, 1994). In contrast, male and female inflorescences and infructescences are inversely related to precipitation and temperature (male  $r_s = -0.388$  and  $r_s = -0.509$ , female  $r_s = -0.476$  and  $r_s = -0.542$ , and fruits  $r_s = -0.576$  and  $r_s = -0.71$ ,  $P < 0.05$ , respectively; SigmaStat., 1994).

Male inflorescences have  $15.81 \pm 2.28$  flowers per inflorescence ( $n = 63$ ) and females  $12.56 \pm 1.77$  flowers ( $n = 70$ ). Mean flower number between sexes is significantly different (Mann-Whitney,  $t = 5890$ ,  $P = <0.0001$ ; SigmaStat., 1994). Flower size was different between sexes, male flowers have a larger corolla diameter ( $\bar{x} = 2.66 \pm 0.4$  cm,  $n = 26$ ) than females flowers ( $\bar{x} = 2.24 \pm 0.3$  cm,  $n = 40$ ) (t-test,  $t = 4.1$ ,  $df = 64$ ,  $P = <0.0001$ ;



SigmaStat, 1994). Length of estaminal and stigmal columnnes were similar between sexes (male  $\bar{x} = 0.50 \pm 0.08$  cm,  $n = 33$ , and female  $\bar{x} = 0.48 \pm 0.7$  cm,  $n = 41$ ; Mann-Whitney U,  $t = 1370$ ,  $P = 0.1391$ ; SigmaStat, 1994). However, the diameter of the flower base in females was larger than that of male flowers ( $\bar{x} = 0.63 \pm 0.06$  cm,  $n = 41$  and  $\bar{x} = 0.58 \pm 0.04$  cm,  $n = 33$ , respectively; Mann-Whitney U,  $t = 885$ ,  $P = <0.0001$ ; SigmaStat, 1994).

Covered female inflorescences produced no fruits in the agamospermy test. All uncovered inflorescences developed fruits indicating female flowers need vectors to effect fecundation. On other hand, we observed that all flowers of most female inflorescences produce fruits, only inflorescences damaged by moths larve and those with abnormal develoment because they grow underground or covered with branches and litter, did not produce fruits.

Female and male flowers of *B. bambusarum* are visited by many taxa of insects (Table 1). Most of them are occasional or opportunistic visitors like ants (Rico-Gray, 1993) and butterflies. Only flies of genera *Perckiamya* and *Peckia* were observed carrying pollen and touching the stigmatic columnne (Figure 2). Individuals of *Camponotus planatus* Roger and *C. sericeiventris* (Guerin) were observed visiting flowers of *B. bambusarum* (Rico-Gray, 1993). We also observed *C. sericeiventris* individuals carring pollen on their thorax, but they were not considered pollinators because ants produce substances that reduce pollen viability, thus pollen movement will be limited between flowers (Beattie et al., 1984, 1985).

*Peckia* spp. and *Perckiamya* spp. flies visit the flowers of *B. bambusarum* all day (Figure 3), carring pollen on their heads and thorax. Individuals of *Perckiamya* spp. carry more pollen than individuals of *Peckia* spp.; after visiting flowers the latter fly to some sunny place (soil or litter), and clean most pollen off their bodies. *Perckiamya* individuals made more visits to flowers of *B. bambusarum*, 89 in the first day and 36 the second one, than individuals of *Peckia* (21 and 16 visits per day, respectively) (Figure 3). The proportion of visits per sex were similar, females were fly visted 8.8% and 18.92% ( $\chi^2_c = 3.0$ ,  $df = 1$ ,  $P > 0.05$ ; Yates correction; Zar, 1984), and males were visited 91.20% and 81.08% ( $\chi^2_c = 0.48$ ,  $df = 1$ ,  $P > 0.05$ ; Zar, 1984). While the proportion of visits between sexes were different, male flowers were more visited by *Perckiamya* spp. ( $\chi^2_c = 66.26$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0.001$ ; Zar, 1984) and *Peckia* spp. ( $\chi^2_c = 37.41$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0.001$ ; Zar 1984) than females flowers (Figure 3).

On the other hand, mean foraging time by *Peckia* spp. in each male flower was 25.8  $\pm$  27.74 s ( $n = 37$ ), while in female flowers it was 14.3  $\pm$  13.2 s ( $n = 20$ ) (Mann-Whitney U,  $t = 427$ ,  $P = 0.0108$ ; SigmaStat, 1994). *Perckyamia* spp. spent 39.15 s ( $\pm$  33.63,  $n = 44$ ) on each male flower, and 11.7 s ( $\pm$  12.13,  $n = 13$ ) on females (Mann-Whitney U,  $t = 196$ ,  $P = 0.0001$ ; SigmaStat, 1994). *Perckiamya* spp. remained more time on the male flowers than *Peckia* spp. (Mann-Whitney U,  $t = 1300$ ,  $P = 0.0406$ ; SigmaStat, 1994). However, both flies spent the same time per visit for female flowers (Mann-Whitney U,  $t = 186$ ,  $P =$

0.2037; SigmaStat, 1994). Other visitors, like the butterfly *Adelpha* sp. spent 3-5 min foraging one flower, and used over 20 minutes to visit one inflorescence (4-6 flowers). Some visitors, as *Peckia* spp., *Perckiamya* spp., and *Camponotus* spp., were observed in female and male flowers of *B. bambusarum* year-around, while *Hamadryas* sp. only were observed during peak flowering.

Flowers of *B. bambusarum* produce little nectar (less than 3  $\mu$ l). Nectar production was not recorded in detail; we only made observations on sugar concentration. The position of flowers on the inflorescences and the diameter of the corolla (Meijer, 1993) do not allow nectar accumulation. Our data indicate that nectar of female flowers has higher sugar concentration than that of male flowers ( $\bar{x}$  = 29.00  $\pm$  2.93,  $n$  = 8 and  $\bar{x}$  = 25.75  $\pm$  3.10,  $n$  = 12; respectively; t-test,  $t$  = 2.36,  $df$  = 18,  $P$  = 0.0299; SigmaStat, 1994).

The population used for the fluorescent dyes study was clumped (Index of clumping T-Square,  $C$  = 0.89,  $z$  = 11.93,  $P$  < 0.01; Indices of dispersion of Johnson and Zimmer,  $Y$  = 3.55,  $z$  = 7.16,  $P$  > 0.05; Ludwig & Reynolds, 1988). Fluorescent dyes were moved amply within the population; practically all inflorescences (female and male) showed at last one color of dye, and several female flowers presented more than one color (those near the three males marked with the dyes). Mean distances of carrier between colors were not different (Kruskal-Wallis one way analysis of variance on ranks,  $H$  = 2.53,  $df$  = 2,  $P$  = 0.2822; SigmaStat, 1994). Dyes have a leptokurtic distribution (kurtosis > 0, SigmaStat, 1994), reaching principally 0.6 to 1.6 m, and more than 4 m (Figure 4). We observed *Peckia* individuals fly between inflorescences as far as 6 m after flower visits. In some inflorescences we found fluorescent dyes colors from the two other populations. Apparently flies can easily travel among populations of *B. bambusarum*, reaching conspecific stigmas.

## DISCUSSION

In the subdeciduous tropical forest at CICOLMA flowering peak of *B. bambusarum* is during the dry season. Flowering of *Rafflesia kerri* W. Meijer (Rafflesiaceae) also occurs in the driest time of year in Southern Thailand, though flowering may extend through the year (Meijer & Elliot, 1990). Parasitic plants have a closer physiological interaction with their hosts, obtaining water and nutrients and using the host's regulatory substances of different process that are conducted through the xylem (Bernier *et al.*, 1981; Kuijt, 1969; Stewart & Press, 1990), as for flowering. Fratiante (1965) observed the relationship between flowering of *Cuscuta campestris* Yucker and the flowering of its host. In CICOLMA, *Bursera simaruba* produces flowers and fruits from December to April (Ortiz, 1994), superposing their reproduction with *B. bambusarum*. We hypothesized that *B. bambusarum* could be using as flowering cue the flowering substances that induce flowering in *B. simaruba*.

There are many inflorescences of *B. bambusarum* during peak flowering, we found more than 84 inflorescences (both sexes) in 9 m<sup>2</sup>. Flowers of *B. bambusarum* have a yeasty smell. Increasing when many inflorescences within a population are present at the same time. Generally carrion flowers do not offer rewards to visitors (Faegri & van der Pijl, 1979). Beaman et al. (1988) found that visual and olfactory cues are important in attracting flies to flowers of *Rafflesia pricei* W. Meijer, and they considered that the functional significance of a big flower size in *Rafflesia* (ca. 70 cm) is to compensate a multiflowered inflorescence for attracting flies. Odor and reproductive characteristics of the flowering peak of *B. bambusarum* (high number of inflorescences in each population, flower size, flower number/inflorescences, male biased, nectar quantity and quality) present during the season when less resources are in the forest (dry season), could be a sufficient stimulus to attract flies. However, flies are present year-around in the forest and visit isolated female and male inflorescences, suggesting that *B. bambusarum* is consistently attractive to visitors despite the number of inflorescences.

Flies of *Peckia* spp. and *Perckiamya* spp. can visit many flowers of different populations of *B. bambusarum* in 24 h, and some female flowers could be receiving pollen of different male flowers. Life time of the flowers of *B. bambusarum* is about five days (García-Franco, J.G., pers. obs.), as in *Rafflesia* flowers (Beaman et al., 1988; Endress, 1994). During this time flies of *Peckia* and *Perckiamya* will fly between populations visiting many male flowers and doing pollen deposition in many different female flowers. This is reflected in the great genetic variability within and among populations found by García-Franco and co-workers (1996). Calliphorid flies, visitors of flowers of *Rafflesia pricei* (Beaman et al., 1988), may fly distances over 20 km in a few days and live over 3 months (Endress, 1994). Life time and flight capacity of *Peckia* spp. and *Perckiamya* spp. are still unknown. Our data of dye movement among populations suggests that flies frequently carry pollen between populations of *B. bambusarum*, reducing genetic divergence among populations and increasing the neighborhood area and the population effective size (García-Franco et al., 1996).

Some of the secondary sex characteristics of *Bdallophyton bambusarum* agree with the general reproductive characters of dioecious plant species; sex ratio is male biased and inflorescence numbers are greater in males than in females (Geber, 1995; Lloyd & Webb, 1977; Willson, 1983). These characteristics are generally associated with higher pollinator visiting ratio, let out a great pollen movement and having successful pollinations (Bell, 1985). However, nectar and larger female flowers of *Bdallophyton bambusarum* with more sugar concentration allows visitation even when isolated.

Plants usually reproduce when more resources are available; but, depending on availability, plant longevity (annual, perennial), life-form (tree, shrub, herb), age, and sex, they can face a trade-off among allocating energy to the two other essential activities, maintenance and growth, and maximizing individual fitness (Willson, 1983). If resources are scarce, reproduction can be limited due to the high energy requirements needed to

produce flowers and develop fruits. In contrast, we suggest that in holoparasitic endophyte plants this trade-off, to allocate resources to vegetative structures or maximize reproduction is not present. Small holoparasitic endophytes, like *B. bambusarum* that parasite a small number of roots in the upper layer of the soil, with no vegetative structures and only the need to develop inflorescences (male and female) and fruits, may not be resource limited, because all the resources needed for reproduction are obtained from their hosts.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank V. Hernández and R. Tibana for fly identification. To the personnel of CICOLMA for their hospitality and for providing climatic data. We appreciate the comments and suggestions of R. Dirzo, C. Vázquez-Yanes, L. Eguiarte and V. Parra to an earlier version of the manuscript. Field work was supported by Instituto de Ecología, A.C. (902-16) and CONACyT grant (No. 903579) to VRG.

#### REFERENCES

- BLAIN D, KELLMAN M. 1991.** Effect of water supply on tree seed germination and seedling survival in a tropical seasonal forest in Veracruz, Mexico. *Journal Tropical Ecology* 7: 69-83.
- BEAMAN RS, DECKER PJ, BEAMAN JH. 1988.** Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* 75: 1148-1162.
- BELL G. 1985.** On the function of flowers. *Proceedings of the Royal Society of London* 8B224: 223-265
- BERNIER G, KINET JM, SACHS RM. 1981.** *The physiology of flowering* Vol. 1. The initiation of flowers. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc.
- DUDASH MR. 1991.** Plant size effects on female and male function in hermaphroditic *Sabatia angularis* (Gentianaceae). *Ecology* 72: 68-78.
- ENDRESS PK. 1994.** *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Oxford: Cambridge University Press.
- FAEGRI K, VAN DER PIJL L. 1971.** *The principles of pollination ecology* (2nd edition). Oxford: Pergamon Press.
- FRATIENNE DG. 1965.** The interrelationship between the flowering of dodder and the flowering of some long and short day plants. *American Journal of Botany* 52: 556-562.
- GARCÍA-FRANCO JG. 1996.** Biología de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). Unpublished Ph.D. Thesis. Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- GARCÍA-FRANCO JG, RICO-GRAY V. 1995a.** Distribution and specificity in the holoparasite *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) in a tropical deciduous forest in Veracruz, Mexico. *Biotropica* (in press).
- GARCÍA-FRANCO JG, RICO-GRAY V. 1995b.** Dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) en la costa de Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical* (submitted).
- GARCÍA-FRANCO JG, SOUZA V, EGUIARTE LE, RICO-GRAY V. 1996.** Population genetics of the holoparasitic endophyte *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* (manuscript).
- GEBER MA. 1995.** Fitness effects of sexual dimorphism in plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 10: 22-23.
- GÓMEZ LD. 1983.** Parasitic plants. In: Janzen DH, ed. *Costa Rican Natural History*. Chicago: The University of Chicago Press, 292-298.

- KEARNS CA, INOUE DW. 1993.** *Techniques for pollination biologists*. Niwot, Colorado: University Press of Colorado.
- KELLMAN M. 1990.** Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, México. *Journal of Tropical Ecology* **6**: 355-370.
- KELLMAN M, ROULET N. 1990.** Nutrient flux and retention in a tropical sand dune succession. *Journal of Ecology* **78**: 664-676.
- KUIJT J. 1969.** *The biology of parasitic flowering plants*. Berkeley: University of California Press.
- LLOYD DG, WEBB CJ. 1977.** Secondary characters in plants. *The Botanical Review* **43**: 177-216.
- LUDWING JA, REYNOLDS JF. 1988.** *Statistical Ecology*. New York: John Wiley & Sons.
- MEIJER W, ELLIOT S. 1990.** Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Natural History Bulletin Siam Society* **38**: 117-133.
- MORENO-CASASOLA P. 1982.** Ecología de la vegetación de dunas costeras: factores físicos. *Biotica* **7**: 577-602.
- MORENO-CASASOLA P, VAN DER MAAREL E, CASTILLO S, HUESCA ML, PISANTY P. 1982.** Ecología de la vegetación de dunas costeras: estructura y composición en el Morro de la Mancha, Ver. *Biotica* **7**: 491-526.
- NOVELO A. 1978.** La vegetación de la Estación Biológica El Morro de la Mancha, Veracruz. *Biotica* **3**: 140-143.
- ORTIZ PR. 1994.** Frugivoría y dispersión de semillas por aves en el Morro de la Mancha, Ver. Unpublished Thesis, Fac. de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.
- PRESS MC. 1989.** Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology and Evolution* **4**: 258-263.
- RAMÍREZ-RAMÍREZ F, GARCÍA-GUZMÁN G. 1990.** Estructura y composición florística de la selva costera en La Mancha, Veracruz. In: Sociedad Botánica de Mexico, ed. *XI Congreso Mexicano de Botánica*, Programas y Resúmenes. Oaxtepec, Morelos, pp.188.
- RICO-GRAY V. 1993.** Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. *Biotropica* **25**: 301-315.
- RICO-GRAY V, LOT-HELGUERAS A. 1983.** Producción de hojarasca del manglar de la Laguna de la Mancha, Veracruz, México. *Biotica* **8**: 295-301.
- SIGMASTAT. 1994.** *SigmaStat, I.O.* San Rafael: Jandel Scientific Software.
- STEWART GG, PRESS MC. 1990.** The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**: 127-151.
- WILLSON MF. 1983.** *Plant reproductive ecology*. New York: John Wiley & Sons.
- ZAR JH. 1984.** *Biostatistical Analysis*. Second Edition. New Jersey: Prentice Hall.

Table 1. Floral visitors of Bdallophyton bambusarum (Rafflesiaceae) in the deciduous tropical forest at CICOLMA, Veracruz, Mexico. (\* pollinators)

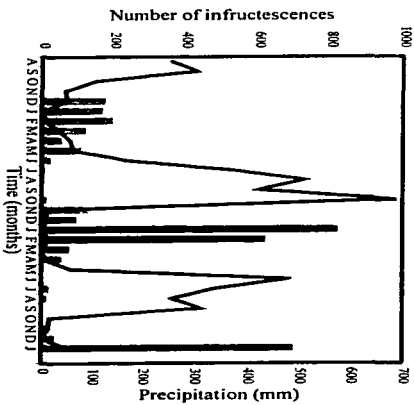
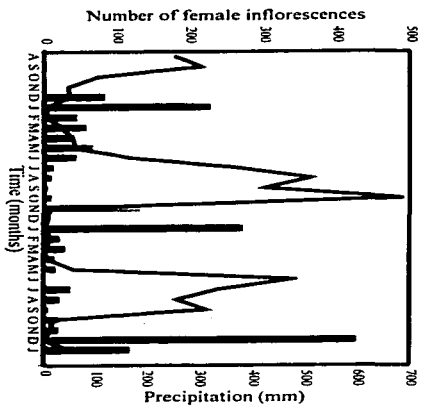
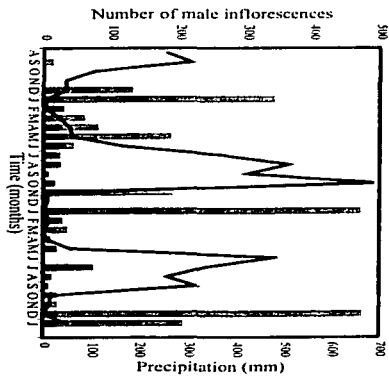
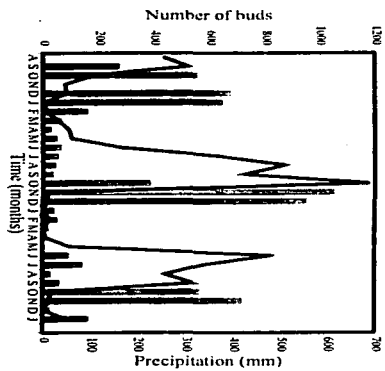
---

Diptera	Sarcophagidae	<u>Bezzisca</u> sp. <u>Helicobia stellata</u> (Wulp) <u>Oxysarcodexia amorosa</u> (Shiner) <u>Oxysarcodexia conclausa</u> (Walker) <u>Peckia gullo</u> (Fabricius)* <u>Peckia chrysostoma</u> (Wiedemann)* <u>Perckiamya calx</u> (Hall)* <u>Perckiamya</u> sp.* <u>Raviniini</u> sp. Sp. 1
	Drosophilidae	<u>Drosophila</u> sp.
Himenoptera	Formicidae	Formicinae <u>Camponotus planatus</u> Roger <u>Camponotus sereceiventris</u> (Guerin) Ponerinae <u>Pachycondyla villosa</u>
	Apocrita	Tenthredinidae Wasp 1 Apoidea <u>Apis</u> sp.
Lepidoptera	Nymphalidae	<u>Adelpha</u> sp. <u>Hamadryas</u> sp. <u>Siprocta stelenes biplagiata</u> Fruhst.

---

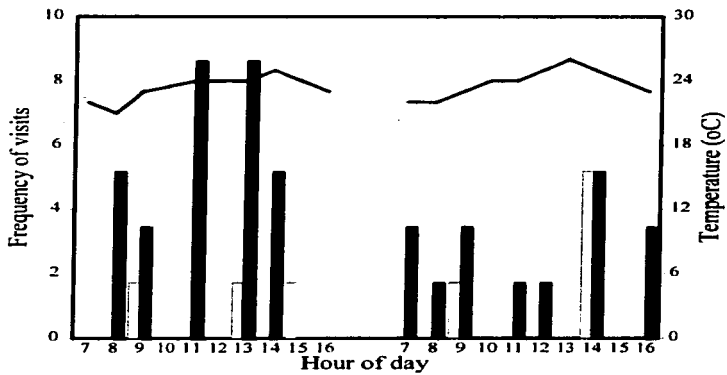
## Figure Legends

- Figure 1. Phenology of *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) in the subdeciduous tropical forest at CICOLMA, Ver. Mexico. a) Floral buds. b) Male inflorescences. c) Female inflorescences. d) Fruit development. Precipitation (line) during the study is indicated in all graphs.
- Figure 2. A *Peckia* sp. (Sarcophagidae) fly on a female inflorescence of *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) in CICOLMA.
- Figure 3. Fly visits to female (solid bars) and male (hatched bars) flowers of *Bdallophyton bambusarum* at CICOLMA. a) Frequency of visit of *Peckia* spp. b) Frequency of visit of *Perckiamya* spp. Air temperature of the study days (line) are indicated in both graphs.
- Figura 4. Frequency-distance relationships of fluorescence dyes in the flowers of *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) in the subdeciduous forest at CICOLMA.

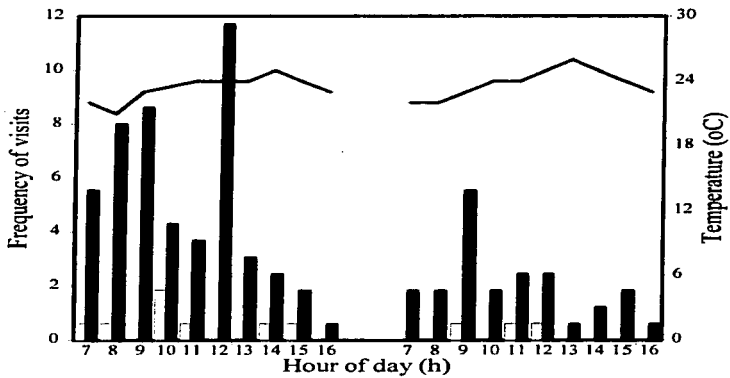




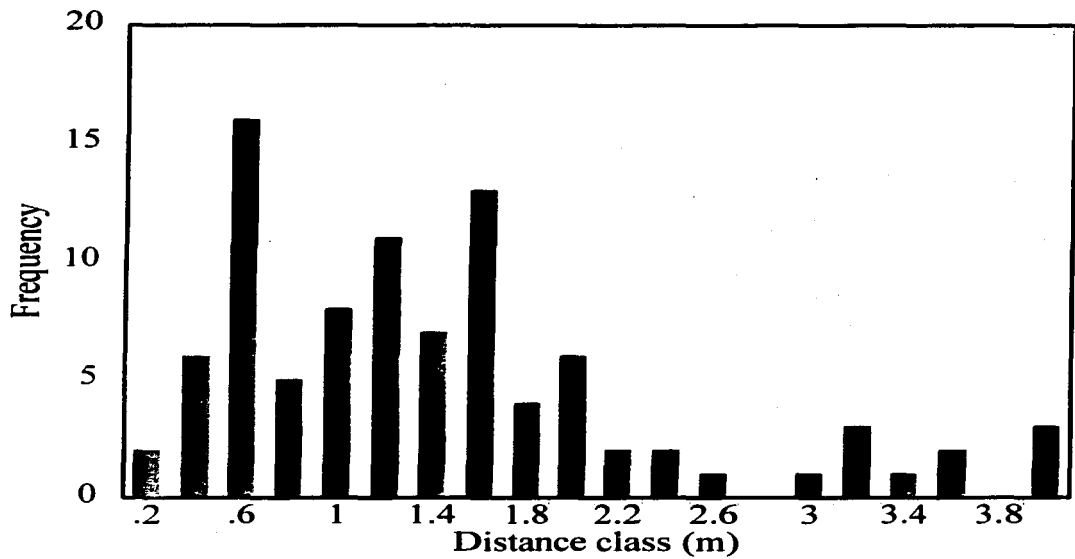




a)



b)



**CAPÍTULO 5. POPULATION GENETICS OF THE TROPICAL HOLOPARASITIC  
ENDOPHYTE *BALLOPHYTON BAMBUSARUM* LIEBM.  
(RAFFLESIACEAE)**

POPULATION GENETICS OF THE TROPICAL HOLOPARASITIC ENDOPHYTE *BDALLOPHYTON*  
*BAMBUSARUM* (RAFFLESIACEAE)<sup>1</sup>

JOSÉ G. GARCÍA-FRANCO<sup>2,4</sup>, VALERIA SOUZA<sup>3</sup>, LUIS E. EGUIARTE<sup>3</sup>,  
AND VICTOR RICO-GRAY<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Manuscript received \_\_\_\_\_; revision accepted \_\_\_\_\_.

We wish to thank the economic support of Instituto de Ecología, A.C. (902-16), and the support from Project PAPIIT, D.G.A.P.A., U.N.A.M. number IN205894 to LEE. We appreciate the comments and suggestions of R. Dirzo, C. Vázquez-Yanes, C. Montaña, T. Terrazas, and J. Nuñez to a earlier version of the manuscript.

<sup>2</sup> Departamento de Ecología Vegetal, Instituto de Ecología, A.C., Apdo. Postal 63, Xalapa, Ver. 91000 México.

<sup>3</sup> Departamento de Ecología Evolutiva, Centro de Ecología, UNAM, Apdo. Postal 70-145, México, D.F. 045679 México.

<sup>4</sup> Autor for correspondence. e-mail: [garciajo@sun.ieco.conacyt.mx](mailto:garciajo@sun.ieco.conacyt.mx)

## ABSTRACT

Life form and vegetative characteristics of holoparasitic plants have limited their knowledge, and nothing about their population biology has been studied. We studied several aspects of the population genetics of *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) on ten populations located in the subdeciduous tropical forest at La Mancha Coastal Research Center (CICOLMA). We determined genetic individuality between inflorescences in one population. Isozyme data of floral buds obtained with cellulose acetate electrophoresis indicates that the population of *B. bambusarum* has high genetic variability ( $H=0.434\pm 0.049$ ). Inflorescences of *B. bambusarum* grow clumped, but UPGMA analysis showed that almost each inflorescence is an individual. The ten populations studied were genetically similar (genetic identity  $0.941\pm 0.051$ , and genetic distance  $0.063\pm 0.057$ ), and  $F_{st}$  values ( $0.06\pm 0.137$ ) suggest that genetic variation within populations is small. Although populations are separated by several meters, pollinators move pollen efficiently among populations (up to 27-30 m). Neighborhood was estimated by two methods (12.80 ind. - 13.37 ind./m<sup>2</sup>), and these are very close to neighborhood values of dioecious species. Effective population size also was obtained by two methods, and the results were similar (124.84-153.49 individuals), and suggest that genetic drift is not an important evolutionary force in the population.

Ecological aspects of the biology of parasitic plants have advanced dramatically in recent years (Kelly, 1994; Overton, 1994; García-Franco and Rico-Gray, in press). In contrast, the study of their evolutionary biology is very poorly understood. This is specially true for the holoparasitic endophyte plants, because they do not have vegetative structures outside the host (i.e. stems, branches, leaves), and they are conspicuous only when their sexual reproductive structures emerge from the host's stems or roots, or by the tuber and rhizome-like structures on the host's roots (Kuijt, 1969). The Rafflesiaceae family has the most extreme form of parasitism (Press, 1989), with the endophytic system close to the host's cambium (Kuijt, 1969; Rutherford, 1970; García-Franco, Terrazas and Rico-Gray, submitted). Rafflesiaceae species are mainly dioecious or monoecious; though hermaphroditic flowers are present in the genus *Mitrastema* and in some cases in the Subfamily Rafflesioideae (Kuijt, 1969; Meijer, 1993). Some species, like *Rafflesia pricei* Meijer and *R. kerri* Meijer display large solitary flowers (Beaman, Decker, and Beaman, 1988; Meijer and Elliot, 1990), and each flower could be considered an individual. However, in most species it is not even possible to say if there is more than one genotype in a given host; e.g., *Pylostixes thurberi* Gray and *Bdallophyton bambusarum* (Liebm.) Harms have groups of reproductive structures (flowers or inflorescences) clumped in a section of the host (Rutherford, 1970; García-Franco and Rico-Gray, in press). Kuijt (1969) assumes that in *Pylostixes thurberi*, a great mass of flowers appearing along a limited portion of the host, represents an individual. However, this has not been proved. In this paper we present some basic aspects of the biology of *Bdallophyton bambusarum*. We used isozymes to analyse if the plant is dioecious or monoecious (the inflorescence have flowers of one gender), the number of genotypes and degree of clonality of the population, the level of genetic variation in the population, and among subpopulations and their genetic differentiation. These data was also used to estimate the effective population number and the migration rate and are contrasted with direct estimates of gene flow and effective population size derived from observation of the fluorescent dyes movements (used as pollen analogs), neighborhood effective size, and the number of male and female plants.

## MATERIALS AND METHODS

**Study species --** *Bdallophyton bambusarum* (Fig. 1) is distributed in central Mexico and along the Mexican coasts of the Pacific Ocean and Gulf of Mexico (García-Franco and Rico-Gray, in press). There are 22 subpopulations in a tropical subdeciduous forest at La Mancha Coastal Research Station (CICOLMA) in the state of Veracruz, Mexico, along a perpendicular line from the sea, always associated to roots of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae) (García-Franco and Rico-Gray, in press). In CICOLMA, trees of *B. simaruba* have a density of 10.19 ind/ha, and are randomly distributed: *B. bambusarum* subpopulations do not have a clumped distribution (García-Franco and Rico-Gray, in press). Flowering peak occurs at the beginning of the dry season (December-February), *Peckya* spp. and *Perckiamya* spp. (Diptera: Sarcophagidae) are the main pollinators (García-Franco and Rico-Gray, submitted a). Flies are abundant in the forest and they are excellent pollen vectors within and among subpopulations. Direct observations showed

that after visiting a flower, individuals of *Peckia* sp. can fly up to 6 m within a subpopulation, and fluorescent dye experiments indicated their movement between subpopulations as far as 27 to 30 m (García-Franco and Rico-Gray, submitted a). Fruit set is high in all subpopulations, and seeds are dispersed by mice (*Peromyscus mexicanus mexicanus*, Rodentia: Muridae: Murinae), and ants (*Atta* sp., Myrmicinae) at the beginning of the rainy season (May-June) (García-Franco and Rico-Gray, submitted b). Each fruit has many small seeds, after several experiments viability and germination characteristics are still unknown, but seeds are present in the soil seed bank within a population (García-Franco and Rico-Gray, submitted b). During four reproductive seasons (1991-1994) female and male inflorescences were found in the same sites within a subpopulation, growing beside floral scars, suggesting that subpopulation maintenance is through perennial or clonal mechanisms (García-Franco and Rico-Gray, in press).

Study site -- The study was done in a tropical subdeciduous forest at CICLOMA (19°36'N, 96°22'W, elevation <50 m) (Fig. 2). Climate is warm and subhumid, with a rainy season occurring between June and September. Total annual precipitation is 1,100-1,300 mm, and mean annual temperature is 22-26 °C (minimum 10 °C - maximum 38 °C) (Moreno-Casasola, 1982). Several types of vegetation are present in different sandy soils, including tropical subdeciduous forest, tropical dry forest, sand dune matorral, and mangrove forest (Novelo, 1978; Moreno-Casasola et al., 1982; Rico-Gray and Lot-Helgueras, 1983; detailed soil description in Kellman, 1990). The tropical subdeciduous forest has a relatively simple structure and composition, with tree species such as *Bursera simaruba*, *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (Leguminales), *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), *Ficus cotinifolia* H.B.K. (Moraceae), and shrub species such as *Nectandra coriacea* (Sw.) Griseb. (Lauraceae), and *Coccoloba barbadensis* Jacq. (Polygonaceae) (Ramirez and Garcia, 1990; Blain and Kellman, 1991).

Material collected -- We studied ten subpopulations of *B. bambusarum* (Fig. 3), nine separated 26-45 m between each other (subpopulations 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 10), and one more (subpopulation 9) ca. 200 m from the nearest population (subpopulation 8) (Fig. 3). We collected early floral buds of both sexes in each population. Buds were collected from (i) inflorescences on the same root section separated 3-5 cm (joined inflorescences), (ii) inflorescences localized in the same root section but separated 10-30 cm (nearly inflorescences), and (iii) inflorescences on different root sections (separated inflorescences). Inflorescence number, sex, and their localization with respect to others, were different in each subpopulation; it depended on floral bud number present at collecting time. Upon collecting floral buds, we were sure that each genotype was from each inflorescence (without alien pollen). Floral buds were placed individually in Eppendorf tubes, labeled and immersed in liquid nitrogen (-196 °C). All inflorescences sampled were labeled in the field, we measured distances between them, and a distribution map was prepared. We are only presenting as an example, the map of subpopulation 3 (Fig. 4). In the laboratory, the Eppendorf tubes were refrigerated at -70 °C. Some samples were lost during these activities.



Electrophoretic procedures -- With very few changes we followed the methodology for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis proposed by Hebert and Beaton (1993). This system is sensitive and provides equal resolution to other electrophoretic systems (Hebert and Beaton, 1993). The method has some advantages with respect to other electrophoretic analyses (starch or acrylamide gels); small samples and a few extracts are used ( $\pm 2$  gr and 14  $\mu$ l, respectively), and the time for running and staining gels is short (Wynne, Losdale and Brookes, 1992; Hebert and Beaton, 1993).

Extracts were obtained after mashing the staminal or stigmal columns of the buds with five drops of buffer BMP. BMP is: Tris Glycine (TG) (pH 8.9 at 18 °C),  $\beta$ -mercaptoethanol (one drop/1 ml of TG), and a few grains of polyvinylpyrrolidone (PVPP). Extracts were placed in refrigeration (-70 °C) in labeled Eppendorf tubes until running gels. Most genera of parasitic tissues are rich in tannins (Meijer, 1983). We used only staminal and stigmal column because the gels were stained strongly when we included the petals and floral bracts. We used the Super Z-12 applicator kit (Helena Laboratory, Inc.) to place the samples on Titan® III cellulose acetate plates (76x76 mm). Gel running was carried out at room temperature in a electrophoresis tank (Helena Laboratory, Inc.) with TG buffer (pH 8.57) at 200 volts for 17 min. Cellulose acetate plates were immersed on the same TG buffer used for gel running at least 20 min before it was used (Hebert and Beaton, 1993). We analysed 14 enzymes of TG buffer system following the staining protocol described by Hebert and Beaton (1993): Alcohol Dehydrogenase (ADH; EC 1.1.1.1), Aldehyde Oxidase (AO; EC 1.2.3.1), Adenylate Kinase (AK; EC 2.7.4.3), Arginine Kinase (ARK; EC 2.7.3.3), Alfa-Amylase (AMY; EC 3.2.1.1), Hexikinase (HEX; EC 2.7.1.1), Isocitrate Dehydrogenase (IDH; EC 1.1.1.42), Lactate Dehydrogenase (LDH; EC 1.1.1.27), Malate Dehydrogenase (MDH; EC 1.1.1.37), Malate Dehydrogenase NADP<sup>+</sup> (ME; EC 1.1.1.40), Peptidase (PEP; EC 3.4.11 or 3.4.13), Phosphogluconate Dehydrogenase (6PGDH; EC 1.1.1.44), Superoxide Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), and Xanthine Dehydrogenase (XDH; EC 1.1.1.204). Cellulose acetate plates with stain mixtures were placed in a dark room, after 18 min they were washed and immersed in water until reading. Finally, cellulose acetate plates were dried in a laboratory oven (60-70 °C) and stored in containers.

Genetic variation estimates -- Genotypes were estimated directly from gels the same day they were obtained. A UPGMA for genetic individuality of the inflorescences was obtained for each subpopulation using the genotypes data on the MULTIVAR program by Sánchez-Colón and Ornelas de Anda (1990). Using the BIOSYS-1 computer program (Swofford and Selander, 1981), we obtained allelic frequencies, mean of expected heterozygosity for loci and population (Nei, 1978; Hedrick, 1983); genetic identity and genetic distance among populations (Nei, 1978); a UPGMA using genetic distances was constructed (Nei, 1978); fixation indices and Wright's F statistics (1922, 1951). Differences in allelic frequencies were evaluated with a chi-square test (Workman y Niswander, 1970).

Deviations from Hardy-Weinberg expectations were described using fixation indices and their significance was evaluated by a chi-square test following the method of Li and Horvitz (1953). Significance of  $F_{is}$  and  $F_{it}$  was evaluated with a chi-square test as proposed by Li and Horvitz (1953), and of the  $F_{st}$  with a chi-square as described by Workman and Niswander (1979).

**Effective population number and migration rate.-** Gene flow could introduce or maintain genetic variation within subpopulations, change the neighborhood area and the effective population number (Hamrick, 1987; Slatkin, 1995). There are different methods to estimate gene flow within and among subpopulations (Slatkin and Barton, 1989; Ellstrand, 1992; Slatkin, 1995). Direct methods allow the assessment of gene flow using life history stage and ecological conditions when the dispersion occur, while indirect methods include the effects of all kinds of dispersal and the variation in gene flow through time (Slatkin, 1995). When both methods are applied at the same species, it is possible to know if the species is at equilibrium under current levels of gene flow (Slatkin, 1995).

We made two estimations of neighborhood area (Wright 1943a, b, 1946). Neighborhood area is an area from which parents of central individuals may be treated as if drawn at random (Crawford, 1984). a) Direct.- From dispersal distances of fluorescent dyes obtained by García-Franco and Rico-Gray (submitted a), we obtained the axial variance of pollen ( $V_p$ ). We also corrected for deviations from normality by kurtosis parameter ( $K_o$ ), and their significance was tested (Crawford, 1984; Eguiarte, 1990; Eguiarte et al., 1993). From  $K_o$  we estimated an area correction factor (AF), which is equal to 4, if the distribution is normal (Eguiarte et al., 1993). Neighborhood area (A) was estimated for each fluorescent color dye as  $A=3.1416*AF*(V_p)/2$  (Crawford, 1984). Total neighborhood area is the sum of neighborhood areas from pollen, seed dispersion and secondary seed dispersion (Beattie and Culver, 1979; Eguiarte et al., 1993). We only considered the pollen dispersion in female inflorescences, because the inflorescence of *B. bambusarum* have flowers of only one gender (gene flow by pollen movement is from male to female flowers), and seed dispersion is unknown. Here the neighborhood area (A) is the mean of the neighborhood areas obtained from the fluorescent dyes. b) Indirect.- The second estimation of neighborhood was obtained converting the Nm value in neighborhood ( $N_b$ ) using  $N_b=2*3.1416*Nm$  (Slatkin and Barton, 1989). The Nm value was obtained using mean  $F_{st}$ 's (Table 5) through:  $F_{st}=1/(4aN_m+1)$ ; where  $a=(n/n-1)^2$  and  $n$ =number of subpopulations (Crow and Aoki, 1984).

Effective population size was also estimated with two methods. The effective population size is the number of individuals in an idealized population that would show the same amount of genetic change under random genetic drift as the population under consideration (Crawford, 1984; Eguiarte et al., 1993). a) We multiplied the neighborhood area (A) from each fluorescent dye, by the density of reproductive individuals,  $N_e=A*density$  (Eguiarte et al., 1993). The mean of the  $N_e$  value from fluorescent dyes was considered total  $N_e$ . Density was obtained by counting all inflorescences present (male and

female) in a 9 m<sup>2</sup> plot (9.33 inflorescences/m<sup>2</sup>) (García-Franco and Rico-Gray, submitted a). b) For the second method we used the effective population size formula by Crawford (1984) for dioecious species, and sex ratio different to 1:1;  $N_e = [(4NmNf)/(Nm+Nf)] + 1/2$ , where Nm and Nf are the reproductive number of male and female individuals, respectively. We calculated also this value for two reproductive seasons using the data obtained by García-Franco and Rico-Gray (submitted a) in some of the subpopulations.

## RESULTS

**Genetic analysis of individuality variation** -- We obtained good activity for seven different enzymes, all of them were polymorphic for at least two loci, however, when the third loci was present it was mostly unclear; for this reason we did not include it in the analysis (Appendix 1). The number of genotypes was very high; we found 185 genotypes on all subpopulations. Almost each inflorescence was registered as an individual. Only on subpopulations 3 (Fig. 5), 4 and 7 had a pair of joined inflorescences (4) with the same genotype (two in the first one, and one in each of the others). It is necessary to note that all inflorescence pairs, similar genetically, were the same sex. On the other hand, male and female inflorescences did not have differences in genetic markers. The UPGMA analysis shows great variability in the relationship between inflorescences. Joined and neared inflorescences could have high similarity (1 vs. 3, and 5 vs. 6 inflorescences; Figs. 4 and 5), but also joined inflorescences could be within different clusters (17, 18 and 19 inflorescences; Figs. 4 and 5). On the other hand, nonrelated inflorescences (neared and separated inflorescences) presented high similarity (see 7 vs. 17 and 9 vs. 16 inflorescences; Figs. 4 and 5). Inflorescences of the same sex had great genetic similarity, as inflorescences of different sex (11 vs. 12, and 7 vs. 17 inflorescences, respectively; Fig. 4 and 5). This evidence indicates that *B. bambusarum* is a dioecious plant, and in most cases one genetic individual only produces one inflorescence per year.

**Genetic variation** -- We found a mean of two alleles per loci (range 1.93-2). Chi-square heterogeneity in allelic frequencies test (Workman and Niswander, 1970) suggests differences among subpopulations in all loci. Mean of expected heterozygosity (H) (Hedrick, 1983) in each population was high (range 0.337-0.481) (Table 1), and different between subpopulations (Kruskal-Wallis,  $H=26.41$ ,  $p<0.001$ ; Sokal and Rohlf, 1995). Mean of the expected heterozygosity for population of *B. bambusarum* was  $0.434 \pm 0.049$  ( $\pm$ SD) (see Appendix 1).

Genetic identities were high among populations (mean  $0.941 \pm 0.051$ , range 0.749-1.000), while genetic distances were low (mean  $0.063 \pm 0.057$ , range 0.000-0.289), and some populations seem to be equal (e.g., population 1 vs. 6, 1 vs. 7, 6 vs. 7 and vs. 10). Despite the great similarity between populations, it is notable that population 9, spatially far from others (Fig. 3), is the most different population (Fig. 6). In most populations (80%) fixation indices were different from zero, at least in one allele (positively or negatively) (Table 2). Two populations (9 and 10) did not have any significant differences on fixation indices,

suggesting no differences from Hardy-Weinberg. In most populations SOD-2 and ME-2 alleles were negative (90%) (Table 2). Mean of fixation indices on five populations were negative, while positive in the other five populations.

In seven loci the  $F_{is}$  values were negative (six of them significantly), the other seven values were positive (but only one was significant) (Table 3). These results agree with the fixation indices  $F$ , and show that some populations had less homocigosity than expected with a selection for heterozygosity, while others had high levels of homozygosity. All  $F_{st}$  values were significantly different from zero (Table 3). This suggests genetic differences among populations, although the mean of  $F_{st}$  indicates that this difference is low; in other words, 9.7% of variation is between populations, and 90.3% of the variation is within populations (Hartl, 1980).

Neighborhood and effective population size -- Fluorescent dyes were moved from a few centimetres to several metres by the pollinators of *B. bambusarum* (Table 4). Mean distances between dyes were not different (Table 4; García-Franco and Rico-Gray, submitted a). Neighborhood area using fluorescent dye data was 13.43 m<sup>2</sup> (Table 4), and indirect estimate of neighborhood using  $F_{st}$  and  $N_m$  was 12.80 individuals ( $N_b$ ) (Table 3). Effective population size from fluorescent dyes was 124.840 individuals ( $N_e$  by Eguiarte et al., 1993), and 153.49 individuals following Crawford (1984) (Table 4). These values were not significantly different ( $\chi^2$ ,  $P > 0.05$ ) (Zar, 1984). Effective population size in some of the subpopulations were similar or different between the two reproductive seasons. It depended of the size of the subpopulation (Table 1).

## DISCUSSION

Subpopulations of *B. bambusarum* have many genotypes, practically each inflorescence is an individual, despite their location or short distance between them. High similarity between some close inflorescences of *B. bambusarum* suggests that, a) an individual could develop two inflorescences at the same time, and/or b) fragmentation of the endophytic system occurs, but each fragment is not so far from each other. In the root holoparasite *Lophophytum mirabile* Weddell (Balanophoraceae) the deformation produced allows to consider each inflorescence as an individual (Borchsenius and Olesen, 1990; F. Borchsenius pers. comm.). On the other hand, the UPGMA analysis shows that the population of *B. bambusarum* at CICOLMA is a dioecious species, as nearby male and female inflorescence usually have different genotypes. Groups of *B. bambusarum* inflorescences of one sex always appear in the same sites (García-Franco and Rico-Gray, in press), however, we do not know if environmental changes or increases in the age of the parasite could change this situation, as occurs in other plant species (see Richards, 1986).

The subpopulations and the total population have very high levels of genetic variation. García-Franco and Rico-Gray (in press) suggested that *B. bambusarum* could have a clonal or perennial mechanism of reproduction. The species may have this type of

reproductive mechanism, but the high genetic variability found suggests that populations of *B. bambusarum* are very dynamic. On the another hand, mean of total heterozygosity expected for *B. bambusarum* was greater than the heterozygosity of the clonal *Aechmea magdalenae* (Andre) Andre (Bromeliaceae) (Murawski and Hamrick, 1990), and that of several tropical plant species (see Eguiarte, 1990; Pérez-Nasser et al., 1993). Notably, the heterozygosity of *B. bambusarum* is close to the genetic diversity ( $H=0.500$ ) found by Petrunak and Christ (1992) in different populations of *Alternaria solani* Sorauer, and *A. alternata* (Fr.) Keissl. (Deuteromicotina: Hiphomicetes: Fungi); although the latter value is considered very high (Petrunak and Christ, 1992).

The low values of  $F_{is}$  indicate proximity with Hardy-Weinberg expectations (Soltis et al., 1987); although populations with negative values may have a selection for heterozygosity and populations with positive values have selection for homozygosity (Eguiarte, 1990). Seeds of *B. bambusarum* remain in the soil of the forest, but were only near to fruits and inflorescences (García-Franco and Rico-Gray, submitted b). Heterozygosity could be the result of a mayor survival of heterozygosity individuals (Eguiarte et al., 1992). On the other hand, this also suggests random mating by means of outcrossing (Soltis et al., 1987).

Subpopulations with high genetic similarity are not close, only subpopulations 6 and 7 are neighbors (ca. 25 m), and they are ca. 80 m far from subpopulation 1, which is the subpopulation most similar to them. Other subpopulations with high similarity (subpopulation 8 and 10) are separated by ca. 60 m. This similarity could result from efficient pollen transport between populations by flies (García-Franco and Rico-Gray, submitted a). Additionally, although seed dispersal could be leptokurtic, mice can disperse a few seeds quite far, ca. 45-78 m. Habitat range of *Peromyscus leucopus* is 0.2-0.6 ha with a density of 10-30 ind./ha (Burt and Grossenheider, 1976) (a related species with similar behaviour to *P. mexicanus mexicanus*; A. González, pers. com.). Although viability and germination requeriments are unknown, seeds of *B. bambusarum* are present in the soil seed bank of the study site (García-Franco and Rico-Gray, submitted b), suggesting that recruitment could happen. If this situation of genetic similarity and clumped distribution remains, subdivision between subpopulations of *B. bambusarum* could increase.

Holoparasitic plants need chemical signals from hosts to germinate and establish (Stewart and Press, 1990). *Bdallophyton bambusarum* produces a high seed set each reproductive season (García-Franco and Rico-Gray, submitted b). The genetic variability found in CICOLMA suggests that recruitment could be occurring in the populations, although germination conditions are unknown (García-Franco and Rico-Gray, submitted b). However, the high genetic variability found could result from natural mutation (Petrunak and Christ, 1992), despite the low ratio that it could occurs. Studies about genetic variation in parasitic vascular plants are scarce. The hemiparasitic *Arceuthobium americanum* Nutt. ex Engelm., and *A. vaginatum* (Willd.) Presl. subsp. *cryptopodium* (Engelm.) Hawksworth & Wiens have been studied by Linhart (1984). He found high

genetic variation in the two species. On the other hand, Dieringer and Werth (1994) found high levels of genetic diversity in the hemiparasitic *Agalinis strictifolia* Benth. (Penn.) (Scrophulariaceae). Apparently, all parasitic plants (vascular and nonvascular) have high genetic variation.

Our estimations of neighborhood area (*A*) for *B. bambusarum* could be small because we did not include seed dispersal data (13.37 m<sup>2</sup>); however the neighborhood of *B. bambusarum* is very close to the neighborhood values of dioecious species (12.57 m<sup>2</sup>) obtained by Eguiarte (1990). The neighborhood size (*N<sub>b</sub>*) was small (12.80 individuals) suggesting high differentiation. The effective population size (*N<sub>e</sub>*) in *B. bambusarum* was higher than 100 individuals (124.84-153.49 individuals on the subpopulation studied), suggesting that genetic drift is not an evolutionary selective force (Crawfor, 1984). However, inflorescence numbers change on the subpopulations between flowering seasons (Table 1; García-Franco and Rico-Gray, submitted a). Movement of genes within and among subpopulations could be low in one reproductive season and high in other. Neighborhood and effective populations size could be different year to year, triggering the action of evolutionary forces.

The total population of *Bdallophyton bambusarum* in the subdeciduous tropical forest at CICOLMA has high genetic variability, and each population contain many genets. Pollinators carried pollen efficiently within and among populations, producing high genetic similarity between them. Individual genetic identification of each inflorescence using DNA techniques in different flowering seasons, could help to know more about the population biology of the species.

#### LITERATURE CITED

- BEAMAN, R. S., P. J. DECKER, AND J. H. BEAMAN. 1988. Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* 75: 1148-1162.
- BEATTIE, A. J., AND D. C. CULVER. 1979. Neighborhood size in *Viola*. *Evolution* 33: 1226-1229.
- BLAIN, D., AND M. KELLMAN. 1991. Effect of water supply on tree seed germination and seedling survival in a tropical seasonal forest in Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 7: 69-83.
- BORCHSENIUS, F., AND J. M. OLESEN. 1990. The amazonian root holoparasite *Lophophytum mirabile* (Balanophoraceae) and its pollinators and herbivores. *Journal of Tropical Ecology* 6: 501-505.
- BURT, W. H., AND R. P. GROSSENHEIDER. 1976. A field guide to the mammals. Houghton Mifflin Company, Boston, MA.
- COOKE, R. C., AND A. D. M. RAYNER. 1984. Ecology of saprotrophic fungi. Longman, London.
- CRAWFORD, T. J. 1984. What is a population? In B. Shorrocks [ed.], *Evolutionary ecology*, chapt. 7, 135-173. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- CROW, J. F., AND K. AOKI. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of National Academy of Science USA* 81: 6073-6077.
- DIERINGER, G., AND C. R. WERTH. 1994. Population genetic structure of *Agalinis strictifolia* (Scrophulariaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 121:148-153.
- EGUIARTE, L. E. 1990. Genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en los Tuxtlas, Veracruz. Ph.D. thesis. Centro de Ecología, UACyP, UNAM, México, D.F.

- \_\_\_\_\_. N. Pérez-Nasser, and D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Hereditas* 69: 217-228.
- \_\_\_\_\_. A. Búrquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán, and D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47: 75-87.
- ELLSTRAND, M. C. 1992. Gene flow among seed plant populations. *New Forest* 6: 241-256.
- GARCÍA-FRANCO, J. G., AND V. RICO-GRAY. in press. Distribution and host specificity in the holoparasite *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) in a tropical deciduous forest in Veracruz, Mexico. *Biotropica* 27(4).
- \_\_\_\_\_. and V. Rico-Gray. Submitted a. Reproductive biology of *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae). *Botanical Journal of The Linnean Society*.
- \_\_\_\_\_. and V. Rico-Gray. Submitted b. Dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas de *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae). *Revista de Biología Tropical*.
- \_\_\_\_\_. T. Terrazas and V. Rico-Gray. Submitted. Observaciones del sistema endofito de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). *AIWA Journal*.
- HAMRICK, J. L. 1987. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. In K. Urbanaka [ed.], *Differentiation patterns in higher plants*, 53-67. Academic Press, N.Y.
- HARTL, D. L. 1980. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- HEBERT, P. D. N., AND M. J. BEATON. 1993. Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis. Handbook published by Helena Laboratories, Inc., Beaumont, Tx.
- HEDRICK, P. W. 1983. Genetics of populations. Science Books International, Boston, MA.
- KELLMAN, M. 1990. Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, México. *Journal of Tropical Ecology* 6: 355-370.
- KELLY, C. K. 1994. On the economics of plant growth: stolon length and ramet initiation in the parasitic clonal plant *Cuscuta europea*. *Evolutionary Ecology* 8:459-470.
- KUIJT, J. 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press. Berkeley and Los Angeles, CA.
- LI, C. C., AND D. G. HORVITZ. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American Journal of Human Genetics* 5: 107-117.
- LINHART, Y. B. 1984. Genetic variability in the dwarf mistletoes *Arcrothium vaginatum* subsp. *cryptopodum* and *A. americanum* on their primary and secondary hosts. In F. G. Hawksworth and R. F. Scharpf [eds.], *Biology of dwarf mistletoes*, 36-39. U.S.D.A. Forest Service. General Technical Reports RM-11.
- MEIJER, W. 1993. Rafflesiaceae. In: K. Kubitzki [ed.], *The families and genera of vascular plants*. II. Flowering plants. Dicotyledons, 557-563. Springer-Verlag, Berlin.
- MEIJER, W., AND S. ELLIOT. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Natural History Bulletin Siam Society* 38: 117-133.
- MORENO-CASASOLA, P. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: factores físicos. *Biotica* 7:577-602.
- \_\_\_\_\_. E. van der Maarel, S. Castillo, M. L. Huesca, and I. Pisanty. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: estructura y composición en el Morro de la Mancha, Ver. *Biotica* 7: 491-526.
- MURAWSKI, D. A., AND J. L. HAMRICK. 1990. Local genetic and clonal structure in the tropical terrestrial bromeliad, *Aechmea magdalenae*. *American Journal of Botany* 77: 1201-1208.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NOVELO, A. 1978. La vegetación de la Estación Biológica el Morro de la Mancha, Veracruz. *Biotica* 3: 140-143.
- OVERTON, J. MCC. 1994. Dispersal and infection in mistletoe metapopulations. *Journal of Ecology* 82:711-723.

- PÉREZ-NASSER, N., L. E. EGUIARTE, AND D. PIÑERO. 1991. Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80: 45-52.
- PETRUNAK, D. M., AND B. J. 1992. Isozyme variability in *Alternaria solani* and *A. alternata*. *Phytopatology* 82: 1343-1347.
- PRESS, M. C. 1989. Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology and Evolution*. 4: 258-263.
- PROUT, T. 1981. A note on the island model with sex dependent migration. *Theoretical Application in Genetics* 59: 327-332.
- RAMÍREZ, F., AND G. GARCÍA. 1990. Estructura y composición florística de la selva costera en La Mancha, Ver. In *Sociedad Botánica de México, A.C.* [ed.], Congreso Mexicano de Botánica, Programas y Resúmenes, 188. Oaxtepec, Mor., México.
- RICHARDS, A. J. 1986. Plant breeding systems. Unwin Hyman Ltd, London.
- RICO-GRAY, V., AND A. LOT-HELGUERAS. 1983. Producción de hojarasca del manglar de la Laguna de la Mancha, Veracruz, México. *Biotica* 8: 295-301.
- RUTHERFORD, R. J. 1970. The anatomy and cytology of *Pilostyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae). *Aliso* 7:263-288.
- SÁNCHEZ-COLÓN, S., AND J. L. ORNELAS DE ANDA. 1990. Multivar. Un paquete de programas para análisis multivariado aplicado a la ecología. Laboratorio de Ecología Vegetal, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. México, D.F.
- SLATKIN, M. 1995. Gene flow and population structure. In L. A. Real [ed.], *Ecological genetics*, 3-17. Princeton University Press, Princeton, N.J.
- SLATKIN, M., AND N. H. BARTON. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- SOLTIS, D. E., A. J. GILMARTIN, L. RIESEBERG, AND S. GARDNER. 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *T. recurvata* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany* 74: 531-537.
- SOKAL, R. R., AND F. J. ROHLF. 1995. *Biometry*. W. H. Freeman and Company, New York.
- STEWART, G. G., AND M. C. PRESS. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41: 127-151.
- SWOFFORD, D. L., AND R. B. SELANDER. 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analyses of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity* 72: 281-283.
- WORKMAN, P. L., AND J. L. NISWANDER. 1970. Populations studies on southwestern Indian Tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics* 22: 24-49.
- WRIGHT, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *American Naturalist* 56: 330-338.
- \_\_\_\_\_. 1943a. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138.
- \_\_\_\_\_. 1943b. An analysis of local variability in flower color in *Lynanthus parryae*. *Genetics* 28: 139-156.
- \_\_\_\_\_. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics* 31: 39-59.
- \_\_\_\_\_. 1951. The genetic structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- WYNNE, I. R., H. D. LOSDALE, AND C. P. BROOKES. 1992. Use of a cellulose acetate system for allozyme electrophoresis. In R. J. Berry, T. J. Crawford and G. M. Hewitt [eds.], *Genes in ecology*, chapt., 494-499. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- ZAR, J. H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.



APPENDIX I. Allelic frequencies and chi-square for heterogeneity in allelic frequencies for loci and population of the *Bdallophytum bambusarum* in CICOLMA, Mexico.

Locus (N)	Subpopulations										x <sup>2</sup>
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
XDH-1	.18	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	660.256***
A	.778	.786	.526	.417	.550	.625	.630	.273	.353	.250	
B	.222	.214	.474	.583	.450	.375	.370	.727	.647	.750	
XDH-2	.13	.7	.16	.35	.16	.15	.20	.20	.14	.4	536.460***
A	.423	.500	.156	.314	.313	.233	.250	.475	.679	.375	
B	.577	.500	.844	.686	.688	.767	.750	.525	.321	.625	
AO-1	.17	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	537.460***
A	.735	.357	.632	.560	.400	.594	.609	.477	.412	.375	
B	.265	.643	.368	.440	.600	.406	.391	.523	.588	.625	
AO-2	.12	.7	.19	.40	.18	.16	.23	.22	.17	.4	552.906***
A	.375	.429	.158	.538	.389	.406	.435	.432	.735	.375	
B	.625	.571	.842	.463	.611	.594	.565	.568	.265	.625	
SOD-1	.18	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	613.790***
A	.667	.143	.579	.500	.450	.656	.717	.477	.382	.500	
B	.333	.857	.421	.500	.550	.344	.283	.523	.618	.500	
SOD-2	.14	.7	.19	.39	.19	.16	.23	.21	.16	.4	604.128***
A	.500	.286	.053	.590	.500	.375	.413	.429	.594	.250	
B	.500	.714	.947	.410	.500	.625	.587	.571	.406	.750	
MDH-1	.17	.7	.19	.40	.20	.16	.23	.22	.17	.4	659.077***
A	.618	.143	.632	.500	.425	.625	.652	.432	.382	.125	
B	.382	.857	.368	.500	.575	.375	.348	.568	.618	.875	
MDH-2	.13	.7	.19	.34	.19	.16	.23	.19	.15	.4	517.907***
A	.423	.429	.132	.368	.395	.344	.283	.342	.600	.250	
B	.577	.571	.868	.632	.605	.656	.717	.658	.400	.750	
ME-1	.18	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	605.318***
A	.667	.143	.632	.595	.450	.625	.587	.500	.382	.375	
B	.333	.857	.368	.405	.550	.375	.413	.500	.618	.625	
ME-2	.14	.6	.19	.38	.18	.13	.22	.20	.16	.4	626.476***
A	.429	.250	.079	.408	.444	.269	.295	.300	.719	.250	
B	.571	.750	.921	.592	.556	.731	.705	.700	.281	.750	
ADH-1	.16	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	564.807***
A	.781	.429	.500	.488	.425	.563	.630	.386	.529	.250	
B	.219	.571	.500	.512	.575	.438	.370	.614	.471	.750	
ADH-2	.11	.7	.19	.37	.18	.16	.22	.21	.13	.3	590.201***
A	.364	.357	.184	.419	.333	.406	.250	.333	.538	.000	
B	.636	.643	.816	.581	.667	.594	.750	.667	.462	1.000	
ARK-1	.18	.7	.19	.42	.20	.16	.23	.22	.17	.4	590.971***
A	.528	.143	.605	.607	.575	.594	.609	.614	.618	.375	
B	.472	.857	.395	.393	.425	.406	.391	.386	.382	.625	
ARK-2	.9	.7	.19	.32	.18	.15	.21	.18	.14	.4	587.294***
A	.222	.214	.026	.313	.583	.400	.333	.333	.643	.500	
B	.778	.786	.974	.688	.417	.600	.667	.667	.357	.500	

TABLE 1. a) Mean of population's heterozygosity for populations of *Bdallophyton bambusarum* at CICOLMA. b) Number of the inflorescences, sex, and effective population size on the subpopulations studied. c) Total number of the inflorescences, sex, and effective population size in some of the subpopulations studied during the two different flowering peak. Estimates of effective population size following Crawford (1984) for dioecious species and sex ratio different to 1:1. (see text, Materials and Methods).

	Subpopulations									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a)										
H mean	.441	.380	.337	.480	.481	.459	.444	.469	.463	.388
(D.E.)	(.016)	(.028)	(.043)	(.006)	(.005)	(.010)	(.011)	(.009)	(.009)	(.036)
b)										
Male	11	4	7	22	9	6	6	10	7	0
Female	8	3	12	20	11	10	17	12	10	4
Total	19	7	19	42	20	16	23	22	17	4
$N_e$	19.03	7.36	18.18	42.40	20.30	15.50	18.24	22.32	16.97	-
c)										
Flowering peak of 1993										
Male	45	8	-	210	-	-	57	154	-	-
Female	33	11	-	233	-	-	52	99	-	-
Total	78	19	-	443	-	-	109	253	-	-
$N_e$	76.65	19.03	-	442.31	-	-	109.27	241.54	-	-
Flowering peak of 1992										
Male	16	2	-	212	-	-	38	235	-	-
Female	7	1	-	130	-	-	39	96	-	-
Total	23	3	-	342	-	-	77	331	-	-
$N_e$	19.98	3.17	-	322.84	-	-	77.49	273.13	-	-

TABLE 2. Fixation indices (Wright, 1922) per enzyme and per population of *Bdallophyton bambusarum* at CICOLMA.

Locus	Populations									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
XDH-1	.036	.273	.789***	0.559***	-0.212	-0.067	-0.586**	0.083	0.227	-0.333
XDH-2	-0.103	0.143	0.289	0.072	-0.164	-0.304	-0.333	-0.704**	-0.474	-0.600
AO-1	0.244	0.067	1.000***	0.469**	0.167	-0.166	-0.643**	-0.366	0.029	-0.600
AO-2	-0.244	-0.167	0.208	0.045	-0.636*	-0.425	-0.592**	0.166	-0.360	-0.600
SOD-1	0.500*	1.000**	0.784***	0.333*	-0.010	0.030	-0.179	-0.366	0.128	-1.000
SOD-2	-0.143	1.000**	-0.056	-0.060	-0.789***	-0.333	-0.704***	-0.361	-0.166	-0.333
MDH-1	0.875***	1.000**	1.000***	0.700***	0.079	-0.067	-0.533*	-0.204	0.128	-0.143
MDH-2	0.212	0.417	0.309	-0.075	-0.212	-0.524*	-0.394	-0.520*	-0.389	-0.333
ME-1	0.500*	1.000**	1.000***	0.111	0.192	0.200	0.193	0.091	-0.121	-0.600
ME-2	-0.167	-0.333	-0.086	0.183	-0.125	-0.368	-0.419*	-0.429	-0.391	-0.333
ADH-1	0.086	0.417	0.895***	0.190	0.488*	-0.270	-0.400*	-0.054	-0.181	-0.333
ADH-2	0.214	0.689	0.475*	0.167	-0.250	-0.425	-0.333	-0.500*	0.071	
ARK-1	0.443	1.000**	0.890***	-0.148	-0.125	-0.684	-0.278	0.137	-0.370	-0.600
ARK-2	0.357	-0.273	-0.027	0.127	-0.486	-0.111	-0.286	-0.250	-0.244	-1.000
x	0.216	0.406	0.534	0.191	-0.149	0.251	-0.392	-0.234	-0.151	-0.524
SD	0.330	0.542	0.421	0.246	0.337	0.236	0.228	0.277	0.232	0.260

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.005$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ;  $H = F = 0$  Chi-square test (Li & Horvitz, 1953)

TABLE 3. Wright's F statistics (Wright, 1951) and estimations of Nm (Crow and Aoki, 1984) and N<sub>b</sub> (Slatkin and Barton, 1989) for the loci of all populations of *Bdallophyton bambusarum* studied at CICOLMA. (see test, Materials and Methods)

Locus	F <sub>is</sub>	F <sub>it</sub>	F <sub>st</sub>	Nm	N <sub>b</sub> (ind)
XDH-1	0.043	0.171**	0.134***	1.309	8.225
XDH-2	-0.239**	-0.127	0.090***	2.048	12.868
AO-1	0.014	0.073	0.060**	3.173	19.937
AO-2	-0.278***	-0.180**	0.076**	2.462	15.469
SOD-1	0.073	0.166**	0.100***	1.823	11.454
SOD-2	-0.226**	-0.098	0.105***	1.726	10.845
MDH-1	0.273***	0.373***	0.137***	1.276	8.017
MDH-2	-0.162*	-0.092	0.060*	3.173	19.937
ME-1	0.215**	0.290***	0.095*	1.929	12.120
ME-2	-0.244**	-0.101	0.115***	1.558	9.789
ADH-1	0.098	0.166*	0.075***	2.498	15.695
ADH-2	0.003	0.092	0.090***	2.048	12.868
ARK-1	-0.021	0.066	0.085***	2.180	13.697
ARK-2	-0.265***	-0.096	0.133***	1.320	8.294
Mean	-0.047	0.054	0.097	2.037	12.801

F<sub>is</sub> and F<sub>it</sub> \*\*\* p<0.001, \*\* p<0.005, \* p<0.05, g.l.=1

F<sub>st</sub> \*\*\* p<0.001, \*\* p<0.01, \* P<0.05, g.l.=9

TABLE 4. Estimation of pollen dispersion using fluorescent dyes in a subpopulation of *Bdallophyton bambusroum* at CICOLMA.. Female inflorescences founded with each dyes color between parentheses. Total number of inflorescences: female 77 and male 76. (see text, Materials and Methods).

Fluorescences dyes	Dispersal distance ( $\pm$ DS m)			$V_p^b$ (m <sup>2</sup> )	$K_o^c$ (t, P)	AF <sup>d</sup>	A <sup>e</sup> (m <sup>2</sup> )	N <sub>e</sub> <sup>f</sup> (ind/m <sup>2</sup> )	N <sub>e</sub> <sup>h</sup> (ind)	
	mean <sup>a</sup>	minimum	maximum							
Orange (20) <sup>i</sup>	1.548 $\pm$ 1.738	0.125	7.467	2.633	3.300 (17.8, P<0.001)	3.86	15.96	148.91		
Red (31) <sup>i</sup>	1.233 $\pm$ 0.923	0.216	3.597	1.172	0.098 (0.11, NS)	4.00	7.36	68.67		
Green (42) <sup>i</sup>	1.655 $\pm$ 1.673	0.190	8.895	2.803	6.066 (8.02, P<0.001)	3.82	16.82	156.93		
Total (93) <sup>i</sup>										
Values of neighborhood area and effective population size							13.37	124.84	153.49	

<sup>a</sup> Kruskal-Wallis test  $H = 2.53$   $P > 0.05$  (García-Franco and Rico-Gray, 1995b).

<sup>b</sup>  $V_p$  = axial variance for the pollen (Wright, 1943a, 1946; Eguarte, 1990). Bartlett test  $\chi^2 = 6.459$ ,  $P < 0.05$ ,  $z_{0.05|21} = 5.991$  (Sokal and Rohlf, 1969).

<sup>c</sup>  $K_o$  = Kurtosis.

<sup>d</sup> AF = area correction factor (Crawford, 1984).

<sup>e</sup> A = neighborhood area (Crawford, 1984).

<sup>f</sup> N<sub>e</sub> = effective population size (Wright, 1943a, 1946; Eguarte, 1990).

<sup>h</sup> N<sub>e</sub> = effective population size (Crawford, 1984)

<sup>i</sup> Different with the female number because some inflorescences had more than one color.

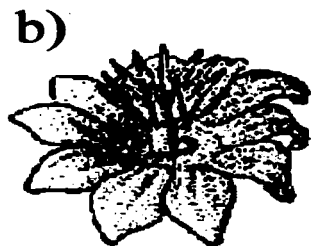
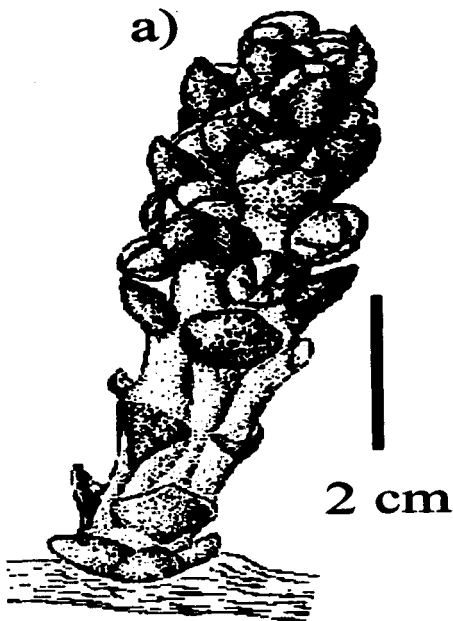
Figure Legends

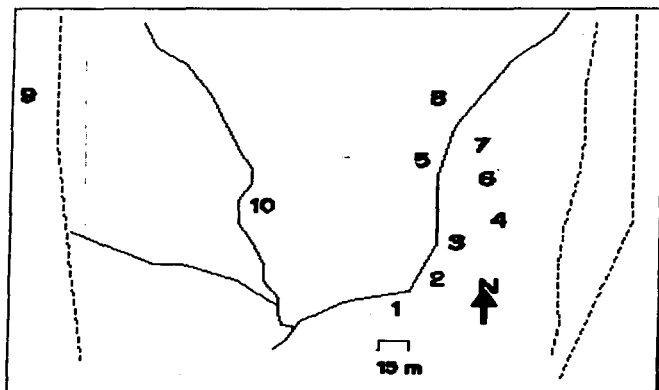
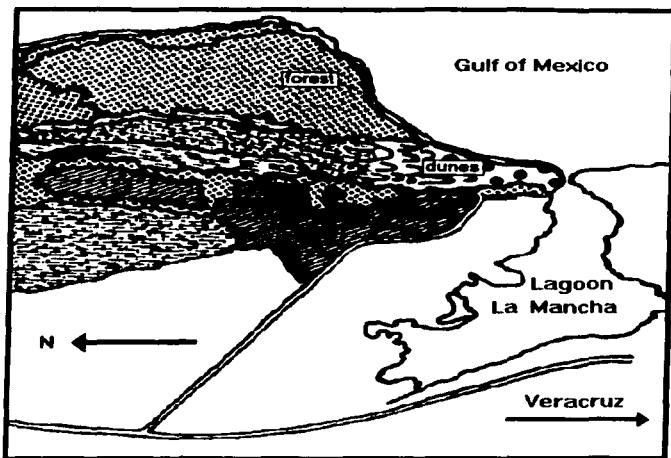
Fig. 1. *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). A. Inflorescence with floral buds. B. Male flower. C. Female flower.

Figs. 2-3. 2. Study area and population location of *Bdallophyton bambusarum*. 2. Location of La Mancha Costal Research Station (CICOLMA). 3. Studied subpopulations of *B. bambusarum* in subdeciduous tropical forest.

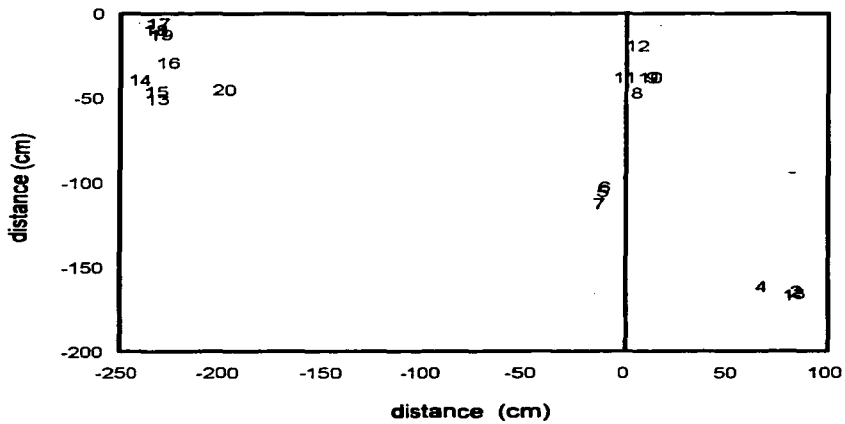
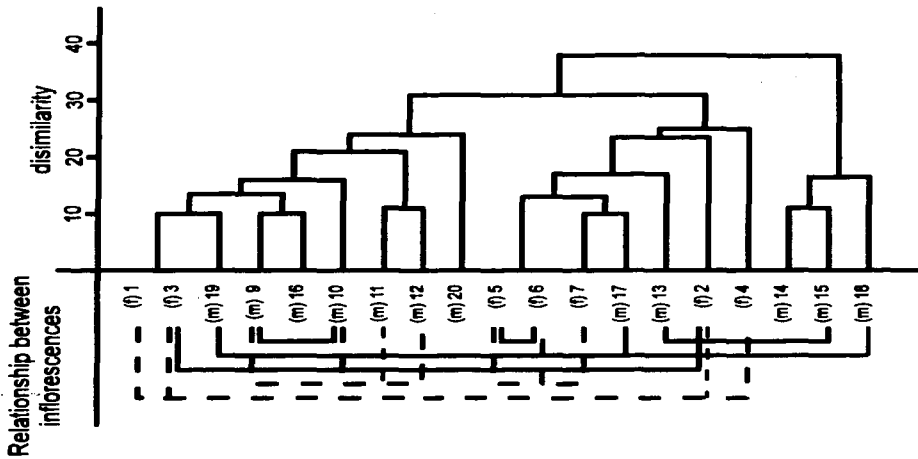
Fig. 4-5. UPGMA and inflorescence relationships in the population 3 of *B. bambusarum* at CICOLMA. 4. Upper. UPGMA of male (m) and female (f) inflorescences sampled. Number is a control number. Down. Show the relationship between inflorescences collected. Join inflorescences (solid line). Near inflorescences (dashed line). Separated inflorescences (no line). 5. Location map of the inflorescences sampled. See text for explanation.

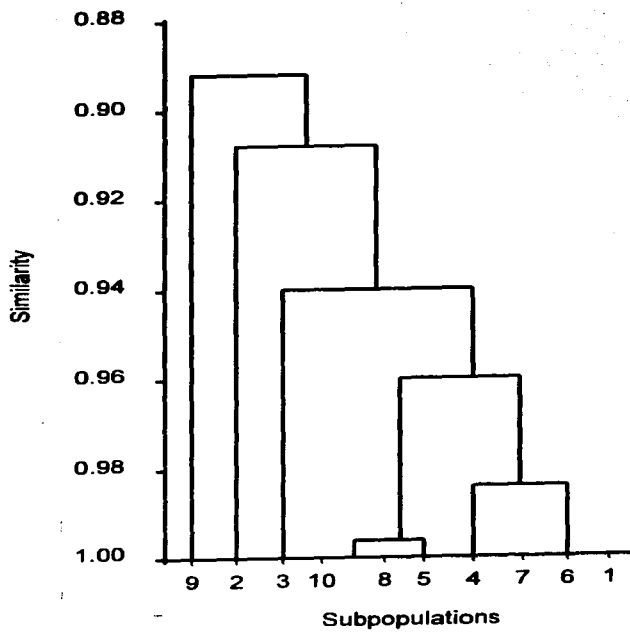
Fig. 6. UPGMA of populations studied of *Bdallophyton bambusarum* at CICOLMA.











**CAPÍTULO 6. DISPERSIÓN, VIABILIDAD, GERMINACIÓN Y BANCO DE  
SEMILLAS DE BDALLOPHYTON BAMBUSARUM (RAFFLESIACEAE) EN  
LA COSTA DE VERACRUZ, MÉXICO.**

**Dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas de *Bdallophyton bambusarum*  
(Rafflesiaceae) en la costa de Veracruz, México.**

**José G. García-Franco  
Victor Rico-Gray**

**Departamento de Ecología Vegetal  
Instituto de Ecología, Apdo. Post. 63, Xalapa, Ver. 91000 México**

**(Rec. . Acep. )**

Abstract: Seed dispersors, seed viability, germination and seed presence in the soil seed bank are unknown aspects for most holoparasitic plants. In the subdeciduous tropical forest at CILCOMA in Veracruz, México, seeds of *Bdallophyton bambusarum* Liebm. are dispersed by *Peromyscus mexicanus mexicanus*, and occasionally by ants (*Atta* sp.). Despite fruits presence during the time of lowest resource availability in the forest, and the abundance of the land crabs (*Gecarcinus lateralis* Frem.), seeds are not dispersed by crabs. Seeds of *B. bambusarum* are present in the soil seed bank, but only near around the inflorescences (both sexes). In order to trigger seed germination, we applied different treatments (scarification with sulfuric acid, hot and water imbivision, root exudated contact), to 40 lots of seeds (total ca. 54,200 seeds) but only eight seeds broke the seed test, but they died very soon. Seeds did not germinate in the germination experiments, neither in culture media (30 seeds lots, total ca. 19,960 seeds in mixes of agar, agar-potato-dextrose, and roots extracts with and without the parasite), and when seeds were in direct root contact (20 lots, ca. 6,656 seeds). The two viability tests maded did not show anythings about seed viability. The results suggest that the seeds of *B. bambusaum* should need to be closer to the host roots to start germination, but they need particular soil physico-chemical characteristic and the physiology of the host.

Key words: dispersion, seed bank, germination, holoparasite, *Bdallophyton bambusarum*, Veracruz, México.

Los frutos y semillas de plantas hemiparásitas presentan características especiales (colores, semillas cubiertas de mucílago) que les permiten tener un patrón de dispersión dirigido. debido al comportamiento de forrajeo y deposición de sus propágulos por las aves (Howe y Smallwood 1982, van der Pijl 1982, Howe 1986, Dadvir 1983). Por el contrario, la dispersión de los propágulos de la mayoría de las especies holoparásitas (e.g., Balanophoraceae, Rafflesiaceae) permanece desconocida. Particularmente, las especies de Rafflesiaceae presentan frutos carnosos con semillas extremadamente pequeñas y, en general, se ha sugerido zoocoria por elefantes, cerdos, aves, roedores, termitas y, secundariamente, por los depredadores de las termitas (Kuijt 1969, Gómez 1983, Meijer 1985, Meijer y Elliot 1990, Emmons et al. 1991). Sin embargo, se han realizado pocos estudios específicos (Emmons et al. 1991). Por otro lado, la permanencia en el sustrato, viabilidad y germinación son procesos que se desconocen para las semillas de las Rafflesiaceae. Inicialmente se tenía la idea de que las semillas, después de dispersadas, germinaban libremente, formando estructuras parecidas a micelios que les permitían crecer y desarrollarse hasta alcanzar un hospedero apropiado (Kuijt 1969). Actualmente se sabe que algunas especies requieren de una serie de señales químicas emitidas por hospederos y condiciones muy particulares para iniciar la germinación y, posteriormente, la presencia de un segundo estímulo químico proveniente del hospedero para iniciar el desarrollo del haustorio funcional y el establecimiento (Kuijt 1969, Stewart y Press 1990, Karssen y Hillhorst 1992). Una vez que las semillas de especies holoparásitas de raíces son dispersadas, puede ocurrir alguno de los siguientes eventos: i) germinar y alcanzar el hospedero específico; ii) germinar, no alcanzar ningún hospedero y morir; iii) no germinar por no ser viables; o iv) permanecer en el suelo latentes hasta que se presenten las condiciones favorables para germinar. Presumiblemente, los diferentes patrones de dispersión encontrados en las plantas son el resultado de selección natural de un grupo de características que incrementan las oportunidades de que las semillas sean ubicadas favorablemente (Fenner 1985). El objetivo del presente trabajo fue conocer la biología de las semillas de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). Particularmente, i) identificar al dispersor o dispersores de las semillas; ii) determinar si las semillas de *B. bambusarum* forman parte del banco de semillas de la selva media de CICOLMA; iii) tratar de conocer la viabilidad de las semillas y iv) conocer si las semillas germinan bajo diferentes condiciones experimentales.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo de campo (captura de frugívoros, colecta de excretas y muestras del banco de semillas) se realizó en las poblaciones de *B. bambusarum* presentes en la selva mediana subcaducifolia del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) (19°36' N, 96°22' W; <50 msnm). En CICOLMA el clima es cálido subhúmedo con lluvias concentradas entre junio y septiembre. Se presentan varios tipos de vegetación: selva mediana subcaducifolia, selva baja caducifolia, matorral de dunas costero y manglar (Novelo 1978, Moreno-Casasola et al. 1982, Rico-Gray y Lot-Helgueras 1983). La selva

mediana subcaducifolia crece en suelos arenosos que por sus características sugieren diferente edad: dunas fósiles con una posible edad del glacial tardío (selva vieja) y dunas recientes con una posible edad de sólo unos cuantos siglos (Kellman 1990).

En CICOLMA *B. bambusarum* se distribuye principalmente en la selva vieja y es parásita específica de las raíces de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae) (García-Franco y Rico-Gray, 1995), florece de diciembre a febrero y es polinizada por moscas (J.G. García-Franco y V. Rico-Gray en prep.), la población total presenta una gran variabilidad genética y las subpoblaciones tienen una gran similitud genética entre ellas (J.G. García-Franco et al. en prep.). Las semillas de *B. bambusarum* utilizadas en los experimentos de germinación se obtuvieron de frutos colectados en las mismas poblaciones donde se capturaron los frugívoros. Los frutos colectados se pusieron individualmente en bolsas de papel en un lugar seco y fresco por tres días antes de extraer las semillas. Las semillas de *B. bambusarum* se separaron manualmente del pericarpo. Para retirar los restos del mesocarpo, las semillas se colocaron por 5 min en un vaso de precipitados con agua destilada a 60°C agitada con un chicharo magnético. El contenido del vaso de precipitados se tamizó (aperturas de 1, 0.7, 0.4 y 0.2 mm) para obtener las semillas. Las semillas se colocaron en cajas de Petri con papel filtro, y se secaron a temperatura ambiente en un sitio fresco y sin luz directa ( $\pm 1\frac{1}{2}$  día).

Frugivoría y dispersión de semillas.- En cuatro grupos de frutos con marca de daño reciente de dos poblaciones (un grupo de cinco infrutescencias en una población y tres grupos con 1-3 infrutescencias en la otra); se colocaron trampas adhesivas comerciales para ratones (7 de febrero de 1994). Las trampas se pusieron por la tarde, se revisaron frecuentemente y se retiraron después de 24 hr. En la población con tres grupos de infrutescencias un observador revisó las trampas durante la noche. Posteriormente, en tres poblaciones (las dos anteriores y una más), se colocaron por tres días trampas Sherman para la captura de ratones alrededor de las infrutescencias dañadas (11, 12 y 13 de febrero de 1994). Diez trampas en la población con más grupos de infrutescencias dañadas, y cinco en cada una de las otras dos poblaciones. Se usó como cebo una mezcla de granos de maíz, semillas de girasol y pan con crema de maní (cebo para roedores, A. González com. pres.).

Por otro lado, se colectaron excrementos de cangrejo (*Gecarcinus lateralis* Frem) y ratón encontrados alrededor de ocho infrutescencias de tres poblaciones. Los excrementos de cangrejo se diferenciaron claramente, ya que son perfectamente cilíndricos, sin terminación en punta, de color verde oscuro, consistencia blanda cuando frescos y dura cuando secos. Los excrementos de ratón son más cortos que los primeros, de color oscuro brillante, casi negro, con terminación en punta. Estos se observaron individualmente bajo el microscopio buscando semillas de la parásita.

Banco de semillas.- Se colectaron 42 muestras de suelo, 21 muestras en sitios con infrutescencias de *B. bambusarum* presentes (de uno o ambos sexos), y 21 en sitios sin la parásita. Las muestras se tomaron de cuadros de 20 x 20 x 2.5 cm y se guardaron en bolsas

plásticas marcadas. Posteriormente, las muestras de suelo se pasaron por tamices de diferentes calibres (aperturas de 1, 0.7, 0.4 y 0.2 mm) para separar las semillas. Los residuos tamizados se homogeneizaron y se revisaron bajo el microscopio.

**Germinación de las semillas.-** Se formaron lotes de semillas de 0.1 g (1 355±238 semillas, N=10) para realizar los siguientes tratamientos de germinación: a) Escarificación con ácido sulfúrico. Lotes de semillas fueron colocados en una solución 1 N de ácido sulfúrico por 1, 5, 10 y 15 min. Posteriormente, se lavaron con agua destilada y se colocaron en cajas de Petri con papel filtro humedecido con agua destilada como sustrato. b) Escarificación con calor e imbibición en agua. Lotes de semillas se sumergieron en agua destilada en ebullición, apagando la fuente de calor inmediatamente, y permitiendo que el agua se enfriara gradualmente. Las semillas permanecieron en el agua por 24 hr y se colocaron en cajas de Petri con papel filtro humedecido con agua destilada como sustrato. c) Testigo. Lotes de semillas sin ningún tratamiento de escarificación se colocaron en cajas de Petri con papel filtro humedecido con agua destilada como sustrato. d) Contacto con "exhudados" de raíces. Diez lotes de semillas puestos en recipientes plásticos y papel filtro como sustrato se colocaron bajo macetas con plántulas de *B. simaruba* y *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) (testigo) sembradas en suelo de la selva mediana de CICOLMA. Por quince días las plántulas se regaron diariamente con agua destilada para que los recipientes con las semillas recibieran el agua proveniente de las macetas y, presumiblemente, los exhudados de las raíces. El exceso de agua en los contenedores de las semillas se retiró en cada ocasión. Todos los lotes de los tratamientos se colocaron por quince días en una cámara de germinación a  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  en el día y  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  en la noche, con 12 hr de luz y 12 hr de oscuridad. Se tuvieron cinco réplicas en los tres primeros tratamientos.

**Experimentos en medios de cultivo con extractos de raíces.-** Lotes de semillas de 0.01 g (332.80±20.83 semillas, N=10) fueron sujetos a dos tratamientos de escarificación y uno de desinfección. Los tratamientos de escarificación, fueron a).- inmersión de las semillas en agua en ebullición apagando la fuente de calor inmediatamente y dejando las semillas en el agua por 24 hr, y b).- baño por 10 min en una solución 1 N de ácido sulfúrico; posteriormente las semillas se lavaron con agua destilada. Los extractos de las raíces de *B. simaruba* se obtuvieron macerando raíces con y sin rastros de inflorescencia de *B. bambusarum* en un mortero con un poco de agua destilada y separando los restos de tejido de las raíces con papel filtro. Los medios de cultivo se prepararon utilizando Agar, Agar-Dextrosa-Papa y los extractos de raíz. Considerando la posibilidad de que con la esterilización perdieran sus propiedades las sustancias químicas que pudieran promover la germinación de las semillas de *B. bambusarum*, los extractos de las raíces fueron divididos en dos. Una parte fue utilizada para la preparación de los medios de cultivo estériles y la otra en la preparación de los medios de cultivo no estériles. Los medios de cultivo preparados se colocaron en cajas de Petri y se dejaron a temperatura ambiente por 24 hr para detectar contaminaciones. Los lotes de semillas tratados se lavaron en una solución de hipoclorito de sodio por 1 min para desinfectarlas, y se lavaron con agua destilada estéril



antes de sembrarlas en los diferentes medios de cultivo en un ambiente estéril. Después, las cajas de Petri se colocaron en un horno de laboratorio (Felisa) a  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ . De cada tratamiento se prepararon cinco réplicas. Las cajas de Petri se revisaron periódicamente, intensificando las observaciones entre los 10 y 15 días de iniciado el experimento.

Contacto directo de las semillas de *B. bambusarum* con raíces.- Lotes de 0.01 g de semillas de *B. bambusarum* sin ningún tratamiento previo se pusieron en contacto directo con las raíces desarrolladas en estacas de *B. simaruba* y de plántulas de *B. alicastrum* (control). Las raíces desarrolladas en las estacas de *B. simaruba* fueron delgadas (diámetro  $0.16 \pm 0.06$  cm,  $N=20$ ), de diámetro menor al de las raíces donde se observaron inflorescencias de *B. bambusarum* en el campo (García-Franco y Rico-Gray 1995). En cada estaca de *B. simaruba* ( $N=5$ ) se pusieron dos lotes de semillas. Las estacas se desenterraron de las macetas sin dañar las raíces. Las semillas se colocaron en trozos de malla fina que se enrollaron y amarraron a las raíces, quedando las semillas en contacto con ellas. En cada una de las plántulas de *B. alicastrum* ( $N=5$ ) también se pusieron dos lotes de semillas siguiendo el procedimiento anteriormente descrito. Durante tres semanas las semillas de la parásita permanecieron en contacto con las raíces. Después, las raíces con los lotes de semillas se lavaron con agua destilada y se filtraron. Los papeles filtro con las semillas de cada lote se colocaron individualmente en cajas de Petri y se dejaron secar a temperatura ambiente. Posteriormente, se observaron las semillas bajo el microscopio..

Viabilidad de las semillas.- Para estudiar la viabilidad de las semillas se aplicaron dos pruebas: a) Prueba de viabilidad de tetrazolium (solución al 1% en buffer de fosfato pH 7). Las semillas de *B. bambusarum* presentan testa dura (García-Franco 1995), por lo que a dos lotes de veinte semillas cada uno se les fracturó la testa presionando las semillas ligeramente entre dos portaobjetos; otros dos lotes de semillas permanecieron intactos. Dos lotes (uno intacto y uno de semillas fracturadas) se colocaron con la solución de tetrazolium en baño maría a  $33^{\circ}\text{C}$  por 24 hr; los otros dos lotes se dejaron en el baño maría por 48 hr. Después se revisaron las semillas bajo el microscopio. b) Prueba de aceto-orceína. A dos lotes de 20 semillas (uno intacto y otro con semillas fracturadas) se aplicó aceto-orceína. Con la aceto-orceína se ha probado la viabilidad de las esporas de musgos (de Luna 1991). Nosotros utilizamos esporas de musgos como testigos. Posteriormente las semillas fueron revisadas bajo el microscopio.

## RESULTADOS

Frugivoría y Dispersión de las Semillas.- Los frutos dañados de *B. bambusarum* son visitados por *Drosophila* sp. (Diptera: Drosophilidae). Algunos de los visitantes florales (J.G. García-Franco y V. Rico-Gray en preparación) también frecuentan los frutos dañados, *Peckia* spp. y *Perckiamya* spp. (Diptera: Sarcophagidae) se observaron frecuentemente en los frutos, mientras que *Hamadryas* sp. (Lepidoptera: Nymphalidae) y *Camponotus* spp. (Himenoptera: Formicidae: Formicinae) raramente se acercaron a ellos.

Por otro lado, también se observaron (una vez) individuos de *Atta* sp. (Himenoptera: Myrmicinae) forrajeando frutos y acarreado pedazos de ellos a sus nidos subterráneos.

En las trampas pegajosas no se capturó ningún vertebrado pequeño, cuando estas se retiraron. sólo contenían diversos dípteros (e.g., *Drosophila* sp., *Peckia* spp. y *Perckiamya* spp.) e himenópteros (e.g., *Camponotus* spp.). En las trampas Sherman sólo se capturó un individuo de *Peromyscus mexicanus mexicanus* (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae). A éste se le ofrecieron frutos de *B. bambusarum* que consumió completamente, arrojando semillas completas en las heces.

Se revisaron de 50-120 excrementos de cangrejo de cada una de las ocho infrutescencias y sólo tres heces de ratón encontrados cerca de una infrutescencia. En ninguno de los excrementos de cangrejo se observaron semillas o restos de ellas, mientras que los tres pedazos de excremento de ratón contenían semillas completas de *B. bambusarum*.

**Banco de semillas.-** Las muestras de suelo alejadas de las estructuras reproductivas de *B. bambusarum* no presentaron semillas. En cambio, casi todas las muestras de suelo cercanas a estructuras reproductivas de *B. bambusarum* presentaron semillas (Cuadro 1). El 85.71% de éstas muestras tuvo semillas. Estas cifras no cambian entre los sitios con diferentes sexos. En las muestras cerca de inflorescencias femeninas, el 83.03% tuvo semillas, mientras que los sitios con los dos sexos, 87.50% si tuvieron semillas. La única muestra de suelo obtenida cerca de inflorescencias masculinas también presentó semillas. Lo anterior indica que las semillas de *B. bambusarum* forman parte del banco de semillas en los sitios donde se encuentran sus poblaciones y que su desplazamiento es limitado, ya que no se encontraron semillas en los sitios sin inflorescencias de *B. bambusarum*.

**Germinación de las semillas.-** En el Cuadro 2a se resumen los resultados de los diferentes tratamientos de germinación. En ninguno de los tratamiento aplicados se observó una respuesta notable de las semillas de *B. bambusarum*. En muchos de los casos los experimentos se suspendieron después de tres semanas, ya que los sustratos se contaminaron. Sólo ocho semillas tratadas con escarificación por calor y contacto directo con exhudados de raíces rompieron la testa. Siete de estas se contaminaron y murieron después de dos semanas; y la última sobrevivió una semana más en un medio de cultivo de agar con antibiótico. Por otro lado, en ninguno de los diferentes medios de cultivo preparados con extractos de raíces germinaron las semillas de *B. bambusarum* (Cuadro 2b). Después de 15 días los medios perdieron sus características (se secaron) o se contaminaron. De igual forma, ninguna de las semillas que estuvieron en contacto directo con las raíces de *B. simaruba* y *B. alicastrum* mostró algún signo de germinación (como ruptura de la testa).

**Viabilidad de las semillas.-** Las sustancias indicadoras de actividad respiratoria en las semillas no sugiere nada sobre su viabilidad. Ninguna semillas se tiñó en las pruebas

con tetrazolium. Con la aceto-orceina se tiñeron las semillas fracturadas, al igual que las esporas (indicando que la prueba sí funcionó). Sin embargo, las semillas se tiñeron completamente, de tal forma que no se podía diferenciar si se debía a la actividad del embrión. La aceto-orceina es una solución utilizada para teñir cromosomas y la literatura no indica su proceso de tinción (Sharma y Sharma 1980), por lo que no se puede asegurar que la tinción observada en las semillas de *B. bambusarum* es una indicación de su viabilidad.

## DISCUSION

Los cangrejos son los omnívoros más abundantes durante la temporada de lluvias en la selva media de CICOLMA; éstos depredan semillas y plántulas de diferentes especies (Blain 1988, Delfose 1990, García-Franco et al. 1991) y, tal vez, funcionan como dispersores de algunas de ellas (García-Franco et al. 1991). Los frutos de *B. bambusarum* son carnosos y pueden ser un recurso atractivo e importante para muchas especies, ya que se presentan durante la temporada seca y el inicio de las lluvias (J.G. García-Franco y V. Rico-Gray, en prep.), periodo en el que hay menos recursos disponibles. Las infrutescencias de *B. bambusarum* se desarrollan en la cercanía de los nidos de los cangrejos y, por lo generalista del hábito alimenticio de éstos crustáceos, se esperaba que los cangrejos consumieran los frutos. De esta forma, los cangrejos serían los dispersores perfectos al llevar a sus nidos subterráneos, al menos, algunas de las semillas de *B. bambusarum* cerca de las raíces del hospedero. Sin embargo, las semillas no se encontraron en sus excrementos.

Los ratones excavadores pueden transportar diásporas y abandonarlas o almacenarlas bajo la tierra (van der Pijl 1982). Algunas especies de Rafflesiaceae pueden ser dispersadas por ratas (Kuijt 1969). En la selva mediana de CICOLMA, además de *P. mexicanus*, se ha registrado a *Liomys pictus pictus* (Rodentia: Heteromyidae: Heteromyinae); las dos son abundantes (Cervantes y Hortelano 1991). Generalmente las especies de *Peromyscus* consumen las semillas (o los frutos) en el lugar, dejando restos de ellas, mientras que las especies de *Liomys* se las llevan a sus madrigeras para consumirlas (Sánchez 1993). El consumo de frutos de *B. bambusarum* por el ejemplar de *P. mexicanus* capturado, la presencia de semillas en sus heces y la semejanza de éstas últimas con las excretas encontradas junto a las infrutescencias, nos permite hipotetizar que *P. mexicanus* remueve las semillas de *B. bambusarum* en la selva media de CICOLMA. Por otro lado, aunque el ámbito hogareño de *P. mexicanus* puede ser de más de media hectárea con 10-30 individuos por hectárea (A. González, com. pers.), su conducta de alimentación puede limitar el desplazamiento de las semillas. La remoción de semillas a grandes distancias (45-78 m), que promueva nuevos reclutamientos en las poblaciones, puede ser un evento poco frecuente (J.G. García-Franco et al., en prep.). Sin embargo, aparentemente de esta forma se han establecido las 23 poblaciones y las inflorescencias aisladas de *B. bambusarum* presentes en CICOLMA (García-Franco y Rico-Gray 1995, obs. pers.), y es

posible que sea uno de los factores que determinan la alta variabilidad y la gran semejanza genética entre poblaciones (J.G. García-Franco et al., en prep.).

Kuijt (1969) sugiere que las hormigas y termitas pueden romper los frutos de algunas Rafflesiaceae y acarrear las semillas, pero ese acarreo bajo la tierra debe de probarse (van der Pijl 1982). Hormigas (*Atta* sp.) acarrean fragmentos de frutos (con semillas) de *B. bambusarum*, y aunque no sea regular, la remoción de semillas al interior de las poblaciones puede ser importante. Las hormigas son granívoras y su papel con las semillas usualmente es de depredación (Beattie 1985), por lo que su efecto sobre la dispersión es pequeño cuando abandonan las semillas durante su traslado al nido (van der Pijl 1982). Las semillas acarreadas por hormigas presentan elaiosomas como atrayentes y recompensas. *Mytropsetalon*, parásita que infecta a sus hospederos bajo la tierra, desintegra su espiga con una parte de la médula adherida como un elaiosoma (van der Pijl, 1982). El mesocarpo del fruto de *B. bambusarum* es atractivo para muchas especies de insectos, y también puede ser un recurso importante para las hormigas. Van der Pijl (1982) considera que algunas holoparásitas de raíces mirmecócoras (e.g., *Mystropetalon*, *Cytinus* y *Lathaea squamaria*), deben de beneficiarse al ser enterradas por las hormigas, porque las ponen en contacto subterráneo con las raíces del hospedero.

Las semillas de *B. bambusarum* son extremadamente pequeñas (ancho  $311 \pm 21.25 \mu$  y largo  $404.38 \pm 27.07 \mu$ ,  $N=16$ ). Las semillas de tamaño pequeño son características de especies que tienen latencia persistente en el banco de semillas y pueden infiltrarse más fácilmente en las grietas del suelo (Fenner 1985). Además, la reducción en el tamaño de las semillas ha sido relacionada como una adaptación para evitar la depredación (Fenner 1985). Las semillas de *B. bambusarum* son tan pequeñas que pasan intactas por el tracto digestivo de los roedores. La presencia de semillas de *B. bambusarum* en el suelo en los sitios donde se encuentran las poblaciones sugiere que tal vez los sitios seguros estén disponibles en la vecindad de los padres, como es el caso para las plantas del desierto (Fenner 1985). Por otro lado, el gran número y el reducido tamaño de las diásporas de *B. bambusarum* puede reflejar otros aspectos de la biología de la especie. Un gran número de semillas con gran longevidad es requerido para que las holoparásitas sean omnipresentes y alcancen los sitios que presentan las condiciones particulares que limitan su germinación (v.g., hospedero, sustrato), lo cual asegura que al menos algunas semillas entren en contacto con las raíces de sus hospederos (Kuijt 1969).

La limitada respuesta de germinación a la amplia gama de tratamientos realizados, sugiere que las semillas de *B. bambusarum*, como otras holoparásitas (géneros de Orobanchaceae, Balanophoraceae, Rafflesiaceae y Lennoaceae), requieren condiciones excesivamente particulares para su germinación, y tal vez entre ellos estímulos químicos provenientes del hospedero. Los estimulantes de la germinación son un medio de selección y localización de las raíces del hospedero, y éstos pueden estar presentes en muy bajas concentraciones (Stewart y Press 1990, Karssen y Hilhorst 1992). Sin embargo, el contacto

directo de las semillas con las raíces del hospedero (y posiblemente con los estimulantes químicos) no es suficiente para disparar la germinación de las semillas de *B. bambusarum*. Experiencias similares monitoreando la germinación e implantación de semillas de *Rafflesia gadutensis* puestas en contacto con *Tetrastigma voinieriana* y *T. obovatum* (registrados como los hospederos) no han tenido éxito (desde 1991- 1995) (M. Way, com. pers.). Lo anterior sugiere que otras condiciones como la fisiología del hospedero (asociada a la edad, variabilidad genética y efecto del medio ambiente) puede ser importante para que los estimulantes químicos de la germinación sean adecuados para iniciar la germinación. El conocimiento de los requerimientos de germinación y establecimiento de las especies holoparasitas endófitas es importante, ya que estas especies representan extremos evolutivos en su fisiología, la reducción de sus estructuras vegetativas y en sus expresiones sexuales (plantas principalmente dióicas con grandes despliegues florales por flores solitarias de gran tamaño o por numerosas inflorescencias). Aunque también, éste conocimiento es la base para obtener los medios de control de las especies parásitas que son plagas de cultivos del hombre (Stewart y Press 1990).

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al personal de CICALMA su hospitalidad en el campo y, a A. González, G. Heredia, D. Salmones y A. P. Vovides se les reconoce su ayuda en diferentes etapas del trabajo. Se agradecen los comentarios y sugerencias de R. Dirzo, C. Vázquez-Yanes y L. Eguiarte a una versión preliminar. El estudio se realizó con apoyo del Instituto de Ecología (902-16) y el CONACYT (No. 903579 a VRG).

### RESUMEN

Los dispersores, viabilidad, condiciones de germinación y la presencia de semillas en el suelo son aspectos desconocidos para la mayoría de las especies de holoparasitas. En la selva mediana de CICALMA, Veracruz, México, las semillas de *Bdallophytum bambusarum* Liebm. son dispersadas por *Peromyscus mexicanus mexicanus* y ocasionalmente por hormigas (*Atta* sp.). Aunque los frutos se presentan en la temporada que hay menos recursos, y los cangrejos (*Gecarcinus lateralis* Frem) son abundantes, éstos no dispersan las semillas. Las diásporas de *B. bambusarum* se encuentran en el banco de semillas, pero únicamente en los sitios donde se presentan estructuras reproductivas de la parásita. Se aplicaron diferentes tratamientos para disparar la germinación (escarificación con ácido sulfúrico, calor e imbibición en agua destilada y contacto con exudados de raíces del hospedero) en 40 lotes de semillas (ca. 54,200 semillas), y sólo ocho semillas rompieron la testa pero murieron rápidamente. De los 30 lotes de semillas (ca. 19,960 semillas) utilizados en los experimentos de germinación con diferentes medios de cultivo (mezclas de agar, agar-papa-dextrosa y extractos de raíces con y sin parásita) ninguna semilla dió muestras de germinación. De igual forma ninguna semilla germinó de los 20 lotes (ca. 6,656 semillas) que se pusieron en contacto directo con raíces. Por otro lado, las dos pruebas de viabilidad realizadas no permitieron conocer si las semillas son viables. Los

últimos resultados sugieren que las semillas de *B. bambusarum* no sólo necesitan estar cerca o en contacto con las raíces del hospero para germinar, sino que también requieren de características físico-químicas del sustrato extremadamente particulares.

## REFERENCIAS

- Beattie, A.J. 1985. The evolutionary ecology of ant-plant-mutualisms. Cambridge University Press, Cambridge.
- Blain, D. 1989. Factors affecting the early stages of regeneration of three tropical tree species in a seasonal forest, Veracruz, Mexico. M.Sc. thesis, York University, Ontario, Canada.
- Cervantes, F.A. & Y. Hortelano M. 1991. Mamíferos pequeños de la Estación Biológica "El Morro de la Mancha", Veracruz, México. An. Inst. Biol. UNAM, Ser. Zool. 62:129-136.
- Dadivar, P. 1983. Birds and neotropical mistletoes: effects on seedling recruitment. *Oecologia* 60: 271-273.
- De Luna, E. 1990. Multicellular spores and false anisospory in *Brywikia ambiagua* (Musci: Trachypodaceae). *Linderbergia* 16: 73-79.
- Delfosse, B. 1990. The effect of the red land crab *Gecarcinus lateralis* (Frem.) on the litter layer nutrient availability and seedling recruitment in a coastal semi-deciduous seasonal tropical forest. M.Sc. thesis, York University, Ontario, Canada.
- Emmons, L.H., J. Nias, & A. Briun. 1991. The fruit and consumers of *Rafflesia keithii* (Rafflesiaceae). *Biotropica* 23: 197-199.
- Fenner, M. 1985. Seed ecology. Chapman and Hall, New York.
- García-Franco, J.G. 1995. Biología de *Bdallophytum bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae). Ph.D. tesis. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.
- García-Franco, J.G., V. Rico-Gray & O. Zayas. 1991. Seed and seedling predation of *Bromelia pinguin* L. by the red land crab *Gecarcinus lateralis* Frem. in Veracruz, Mexico. *Biotropica* 23: 96-97.
- García-Franco, J.G. & V. Rico-Gray. 1995. Distribution and specificity in the holoparasite *Bdallophytum bambusarum* (Rafflesiaceae) in a tropical deciduous forest in Veracruz, Mexico. *Biotropica* 27(4): en prensa.
- Gómez, L.D. 1983. Rafflesiaceae. In: W. Burger (ed.), Flora Costaricensis. *Fieldiana Bot.* II, 13: 89-93
- Howe, H.F. 1986. Seed dispersal by fruit-eating birds and mammals, p. 123-189. In D.R. Murray (ed.), *Seed dispersal*, Academic Press, Australia.
- Howe, H.F. & J. Smallwood. 1982. Ecology of seed dispersal. *Annu. Rev. Ecol. Evol.* 13: 201-228.
- Kellman, M. 1990. Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, Mexico. *J. Trop. Ecol.* 6:355-370.
- Kuijt, J. 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press, Berkeley.
- Karssen, C.M. & H. W. M. Hilhorst. 1992. Effect of chemical environment on seed germination, p. 327-348. In: M. Fenner (ed.), *Seed. The ecology of regeneration in plant communities*. Cab. International, Wallingford, Oxford.
- Meijer, W. 1985. Largest flower. *National Geographic* 168:136-140.
- Meijer, W. & S. Elliott. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerrii* Meijer in southern Thailand. *Nat. Hist. Bull. of Siam. Soc.* 38: 117-133.
- Moreno-Casasola, P., Maarel, E. van der, S. Castillo, M.L. Huesca & I. Pisanty. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: estructura y composición en el Morro de la Mancha, Ver. I. *Biotica* 7: 491-526.
- Novelo, R.A. 1978. La vegetación de la Estación Biológica El Morro de La Mancha, Veracruz. *Biotica* 3: 9-23.
- Rico-Gray, V. & A. Lot-Helgueras. 1983. Producción de hojarasca del manglar de la Laguna de La Mancha, Veracruz, México. *Biotica* 8: 295-301.

- Sánchez, R.G. 1993. Remoción postdispersión de semillas por roedores en la Estación de Biología "Chamela", Estado de Jalisco, México. Tesis. Escuela Nacional de Estudios Profesionales - Iztacala, UNAM, México, D. F.
- Stewart, G.R. & M.C. Press. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 127-151.
- Van der Pijl, L. 1982. Principles of dispersal in higher plants. Spring-Verlag, Berlin.

**Cuadro 1. Presencia de semillas de *B. bambusarum* en las muestras de suelo obtenidas cerca de inflorescencias de la parásita en la selva mediana subcaducifolia de CICOLMA.**

No. de Muestra	Sexo presente	Presencia de semillas
1	F	si
2	F	si
3	F	si
4	F	si
5	F	si
6	F	si
7	F	si
8	F	si
9	F	si
10	F	si
11	F	no
12	F	no
13	F/M	si
14	F/M	si
15	F/M	si
16	F/M	si
17	F/M	si
18	F/M	si
19	F/M	si
20	F/M	no
21	M	si



**Cuadro 2. Tratamientos de germinación realizados a las semillas de B. bambusarum. (Para detalles ver el Materiales y Métodos).**

a	
Tratamiento	Resultado
Sin escarificación	ninguna semilla germinó
Escarificación con ácido sulfúrico	ninguna semilla germinó
Escarificación con calor	a los 10 días una semilla rompe la testa, a los 15 días 4 semillas más rompen la testa
Exhudados directos de raíces de <u>B. simaruba</u>	a los 10 días una semilla rompe la testa, a los 15 días 2 semillas más rompen la testa
Exhudados directos de raíces de <u>B. alicastrum</u>	ninguna semilla germinó
b	
Medio de cultivo	Escarificación con ácido sulfúrico
Agar c/parásita no estéril	ninguna semilla germinó
Agar s/parásita no estéril	ninguna semilla germinó
Agar s/parásita estéril	ninguna semilla germinó
Agar c/parásita estéril	ninguna semilla germinó
Agar c/agua estéril	ninguna semilla germinó
Agar-dextrosa-papa estéril	ninguna semilla germinó
	Calor e imbibición en agua destilada
	ninguna semilla germinó
	ninguna semilla germinó
	ninguna semilla germinó
	ninguna semilla germinó
	ninguna semilla germinó

**CAPÍTULO 7. OBSERVACIONES DEL SISTEMA ENDÓFITO Y CITOLOGÍA DE  
BDALLOPHYTON BAMBUSARUM LIEBM. (RAFFLESIACEAE).**

**Observaciones sobre el sistema endófito y citología de Bdallophyton bambusarum  
(Rafflesiaceae)**

**José G. García-Franco<sup>1</sup>, Teresa Terrazas Salgado<sup>2</sup> y Victor Rico-Gray<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Departamento de Ecología Vegetal,  
Instituto de Ecología, A.C.  
Apdo. Postal 63, Xalapa, Ver. 91000 México**

**<sup>2</sup>Programa Botánica  
Colegio de Posgraduados  
Montecillos, Estado de México, 56230 México**

## RESUMEN

Se estudió el sistema endófito y la citología de la holoparásita *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae). Las células de la parásita se distribuyen en todos los tejidos de la raíz del hospedero, aunque principalmente se encuentran en el floema y xilema secundario. Las raíces parasitadas presentan un mayor número de vasos pero de menor diámetro que las raíces no parasitadas. Las raíces parasitadas que mostraron inicio en el desarrollo de las estructuras reproductivas (inflorescencias) presentaron mayor densidad de vasos y de mayor diámetro que las raíces parasitadas sin desarrollo de estructuras reproductivas. Estas características son compartidas con otras parásitas (hemiparásitas y holoparásitas). También, los vasos se "alinean" a los radios con geotropismo negativo en la sección donde se inicia el desarrollo de las estructuras reproductivas. Esto, junto con las características anteriores, sugiere que la parásita puede obtener todos los recursos necesarios durante la reproducción. El número cromosómico de *B. bambusarum* es de 12 ( $2n = 24$ ), que es similar al de algunas especies de *Rafflesia*.

## INTRODUCCION

Las especies de Rafflesiaceae presentan las formas más extremas de parasitismo (Press 1989). Estas plantas han perdido durante el proceso evolutivo sus estructuras vegetativas (raíces, tallos, hojas), conservando únicamente el cuerpo vegetativo (talo) a manera de filamentos de donde se desarrollan sus flores, a través del cuerpo del hospedero (Kuijt 1969; Press 1989; Meijer 1993). El talo de estas plantas se ha comparado frecuentemente con micelios de hongos (Meijer y Elliot 1990), ya que se encuentra como grupos de filamentos ubicados cerca del cambium vascular del hospero (Rutherford 1970; Meijer 1993); pero actualmente se ha denominado más apropiadamente sistema endófito (Rutherford 1970; Meijer 1993). Como el resto de las holoparasitas endófitas, las Rafflesiaceae han modificado enormemente su metabolismo, para utilizar ampliamente todos los recursos del hospedero (nutrientes, hormonas, etc.) (Stewart y Press 1990). A la fecha se ha estudiado la ubicación general de las células de las parásitas y algunos aspectos particulares de la interfase parásita-hospedera de varios grupos de holoparasitas endófitas. La mayoría de estos estudios se han desarrollado en especies de Balanophoraceae y Orobanchaceae (Baird & Riopel 1986; Gedalovich-Schedletzky & Kuijt 1990; Hsiao et al. 1993, 1994, 1995; Kuijt & Toth 1985; Mauseth et al. 1992) y en una especie holoparasita endófito de Loranthaceae (Mauseth et al. 1984, 1985). Sin embargo, existe un número muy reducido de estudios sobre la anatomía, morfología y citología de las Rafflesiaceae, especies completamente holoparasitas endófitas. En esta familia, Olah (1960) investigó la morfología y citología de *Rafflesia arnoldi* R. Br. que es parásita de tallos de bejuco en Sumatra, y Rutherford (1970) estudio la anatomía y citología de *Pileostyles thurberi* Gray que es parásita de tallos de especies de *Dalea* en el desierto de Sonora. En todos los estudios se hace mención de la localización de las células de la parásita en los tejidos del xilema y floema del hospedero, pero ninguno compara las modificaciones que provoca la parásita a los tejidos del hospedero. En el presente trabajo se describen algunas características del sistema endófito de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae), en particular: a) su ubicación dentro del hospedero; b) se presentan por primera vez los cambios morfológicos en el diámetro, densidad y arreglo de los vasos del xilema secundario en el tejido del hospedero durante el desarrollo de los botones florales; y c) se compara el diámetro y la densidad de vasos del xilema secundario de raíces parasitadas y no parasitadas. Por último, se hace referencia del número cromosómico que presenta la parásita y se compara con el registrado en otras especies de la familia.

## MATERIALES Y METODOS

Area de colecta .- Las muestras se colectaron en la selva mediana subcaducifolia del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) localizada en la costa de Veracruz, México (19°36' N, 96° 22' W, <50 msnm) (para una descripción detallada de la vegetación en el área de estudio ver Moreno-Casasola 1982; Moreno-Casasola et al. 1982; Novelo 1978; Rico-Gray & Lot 1983; y una descripción de las características edáficas en Kellman 1990 y en Kellman y Roulet 1990). En CICOLMA *Bdallophyton bambusarum* es una

holoparásita endófito específica de raíces delgadas (0.55-0.26 cm diámetro) y superficiales (ca. 10 cm) de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae) (García-Franco & Rico-Gray en prensa). *Bdallophyton bambusarum* es una planta dioica que produce inflorescencias principalmente de diciembre a febrero y es polinizada por moscas carroñeras (*Peckya* spp. y *Perckiamya* spp.: Sarcophagidae) (García-Franco & Rico-Gray 1995a). La población total de CICOLMA presenta una gran variabilidad genética, y entre las subpoblaciones muestran una alta identidad genética (García-Franco et al. en prep.). Los frutos se producen abundantemente y las semillas son dispersadas por ratones (*Peromyscus mexicanus*: Rodentia) y hormigas (*Atta* sp.: Myrmicinae) (García-Franco & Rico-Gray 1995b). Después de diferentes tratamientos y pruebas, las condiciones para su germinación permanecen desconocidas (García-Franco & Rico-Gray 1995b).

Observaciones del sistema endófito.- Se colectaron muestras de raíces de *B. simaruba*, parasitadas (N = 15) y no parasitadas (N = 6) por *B. bambusarum*. Las raíces parasitadas se distinguen fácilmente porque presentan marcas en la corteza (cicatrices florales) de las floraciones pasadas (García-Franco & Rico-Gray en prensa). Las raíces se fijaron en FAA (Berlym & Miksche 1976). Posteriormente, tramos de ca. 2 cm de largo fueron incluidos en parafina, siguiendo el procedimiento descrito para esta técnica (Berlym & Miksche 1976). Se hicieron cortes transversales en raíces parasitadas y no parasitadas del mismo diámetro. En raíces parasitadas con estructuras reproductivas en diferente estado de desarrollo también se hicieron cortes transversales y tangenciales. Todos los cortes tienen un grosor de 22 µm. Finalmente, los cortes se tiñeron con safranina, hematoxilina, y verde rápido, siguiendo el procedimiento estándar de tinción (Berlym & Miksche 1976), y se montaron con resina sintética. Las mediciones del diámetro (diámetro tangencial y radial) de los vasos del xilema en cortes transversales de raíces parasitadas y no parasitadas se efectuaron en un microscopio American Optical Micro Star utilizando un objetivo con reglilla (10x). El cálculo del diámetro se obtuvo de acuerdo a la fórmula  $Dh = 4A/P$  para secciones transversales elípticas propuesta por Lewis y Boose (1995). Donde A es el área de una elipse obtenida por  $A = \pi ab/4$  (a = diámetro menor y b = diámetro mayor), y P es el perímetro calculado con  $P \approx \pi \sqrt{(a^2+b^2)}/2$ . La densidad de los vasos se obtuvo contando el número de vasos del xilema presentes en una área de muestreo de 0.3 mm<sup>2</sup>, utilizando para ello el cuadro de enfoque (0.48 x 0.62 mm) de un objetivo fotográfico AO 473 (10x), siguiendo el método de conteo recomendado por Wheeler (1986).

Observaciones citológicas.- Se colectaron botones florales en estado de desarrollo inicial (ver Figura 1, García-Franco et al. en prep.). Debido al temprano estado de desarrollo no se pudo identificar el sexo de las inflorescencias. Los botones se fijaron en ácido alcohólico por 24 hr y se cambiaron a una solución de alcohol al 80%. Posteriormente se tiñeron con aceto-carmin, siguiendo la técnica estándar para la preparación y tinción de cromosomas. El conteo cromosómico se realizó con óptica de contraste de fases con un microscopio Zeiss Fomi III.

## RESULTADOS

Observaciones del sistema endófito.- *Bdallophyton bambusarum* se distribuye por todos los tejidos de la raíz de *B. simaruba*, pero principalmente en el floema y xilema secundario (Fig. 1 y 2). Las células de la parásita se diferencian de las del hospedero porque presentan el núcleo más grande (Kuijt 1969; Rutherford 1970; Meijer 1993; Mauseth et al. 1984; J. D. Mauseth com. pers. 1994). La parásita corre perpendicularmente desde la peridermis, y se observa en los radios del floema y xilema, siendo más conspicua en el xilema donde se inicia el desarrollo de las inflorescencias (Fig. 2). Por otro lado, las raíces parasitadas presentan más almidón que las sanas.

*Bdallophyton bambusarum* modifica los tejidos del hospedero, a diferencia de como se muestra *Tristerix aphyllus* en los tejidos de *Trichocereus chilensis* (Mauseth et al. 1984). La comparación entre raíces del mismo diámetro muestra que, la presencia de las células de la parásita provoca que la región floemática sea mayor en la raíz parasitada que en la no parasitada (Figs. 1 y 2); sin embargo ésto no se cuantificó. Los vasos en la raíz parasitada reducen su tamaño y se agrupan en hileras radiales de 2-5 vasos, principalmente los más cercanos al cámbium. Los vasos de las raíces no parasitadas tuvieron un diámetro de  $374 \pm 68 \mu\text{m}$  ( $N = 56$ ), mientras que el diámetro de los vasos de las raíces parasitadas fue de  $97 \pm 40 \mu\text{m}$  ( $N = 62$ ); estos valores fueron significativamente diferentes (Mann-Whitney,  $T = 5041$ ,  $P < 0.0001$ ) (SigmaStat 1994) (Tabla 1a). La densidad de los vasos también es diferente. En las raíces no parasitadas se observaron  $25.7 \pm 6.53$  vasos por área de muestreo; mientras que las raíces parasitadas tuvieron un mayor número de vasos por área de muestreo,  $51.9 \pm 32.88$  (Tabla 2a). Aunque la diferencia en el número de vasos de las raíces parasitadas y no parasitadas es marcada, no fueron significativamente diferentes (Mann-Whitney,  $T = 144.5$ ,  $P < 0.558$ ) (SigmaStat 1994). Esto tal vez sea debido a que en este último análisis se usaron datos de las raíces parasitadas con y sin inicio del crecimiento reproductivo que tienen una variabilidad muy grande (ver adelante).

Los botones florales (inflorescencias) se desarrollan desde el tejido cortical del hospedero. Por un lado, el crecimiento y desarrollo de las células de la parásita ejercen presión entre las células del xilema y floema, así como en las paredes de la peridermis, que finalmente, es rota para dar paso a la estructura reproductiva de la parásita (Fig. 3). Por otro lado, el inicio del desarrollo de la estructura reproductiva de la parásita parece estar asociado con una modificación tanto en la distribución y el tamaño de los vasos, como en que estos sigan un arreglo paralelo a los radios (Fig. 4). En las raíces que presentan el inicio del desarrollo de estructuras reproductivas, los vasos del xilema tuvieron un diámetro de  $128 \pm 29 \mu\text{m}$  ( $N = 32$ ), mientras que el diámetro de los vasos del xilema secundario en las raíces parasitadas sin el inicio de las estructuras reproductivas fue de  $63 \pm 10 \mu\text{m}$  ( $N = 30$ ). Estos valores fueron significativamente diferentes (Mann-Whitney,  $T = 500.0$ ,  $P < 0.0001$ ) (SigmaStat 1994) (Tabla 1b). Las raíces parasitadas con el inicio del desarrollo de estructuras reproductivas presentaron mayor número de vasos por área de muestreo,  $88.8 \pm 12.37$  vasos, que las raíces parasitadas sin desarrollo de botones florales,  $27.3 \pm 6.56$  (Tabla 2b).

Estos valores también fueron significativamente diferentes (t de Student,  $t = -10.4$ ,  $P < 0.0001$ ) (SigmaStat 1994).

Observaciones citológicas.- Del material colectado se pudieron observar células en estado nucleolar, telofase temprana, metafase temprana, profase tardía y profase con cromosomas bandedados (Figs. 6 y 7). El número cromosómico de *Bdallophyton bambusarum* fue de 12 y se detectó la presencia de un cromosoma B ( $2n = 24 + 1B$ ) (Tabla 3); este último tipo de cromosomas fue registrado también en *Pilostyles thurberi* (Rutherford 1979). Los cromosomas B (o cromosomas supernumerarios) se han documentado para al menos 250 familias de angiospermas (Stuessy 1990); sin embargo, tienen inactividad genética y tienden a ser pequeños (Stuessy 1990). Aunque algunas veces los cromosomas B son constantes constituyentes del genoma, en la mayoría de los casos son irregulares en número y presencia (Stace 1989).

## DISCUSION

La distribución de las células de *B. bambusarum* en el xilema secundario de la raíz de *B. simaruba*, es semejante a la ubicación que presenta *P. thurberi* en las ramas de *Dalea emoryi* (Rutherford 1970) y a la disposición de las células del sistema endófito de *Tristerix aphyllus* (D.C.) Barlow & Weins (Loranthaceae) en el tronco de *Trichocereus chilensis* (Colla) Br. & R. (Cactaceae) (Mauseth et al. 1984). Aparentemente, la ocupación del floema y xilema secundarios por las células de las parásitas, corriendo paralelamente a los radios, es una característica común en las especies de plantas holoparásitas endófitas. Los tejidos de *B. simaruba* infectados por *B. bambusarum*, mostraron un agrupamiento de los vasos, de igual forma que el tejido de *Juglans californica* S. Wats. (Juglandaceae) infectado por *Phoradendron macrophyllum* (Englem.) (Calvin & Wilson 1995). Un mayor número de vasos del xilema en los tejidos infectados, también parece ser una característica compartida entre los hospederos de los dos grupos de plantas parásitas (hemiparásitas y holoparásitas). Esta modificación, puede permitirle a *B. bambusarum* mantener un mayor número de "filamentos" de su sistema endófito en contacto con el sistema vascular del hospedero. Por otro lado, al tener una menor diámetro los vasos, la tasa del flujo de los nutrientes y el agua puede ser menor, de tal forma que sugiere que pueden estar más disponibles para ser captados por las células de la parásita.

Por otro lado, cuando se inicia la floración, la densidad de los vasos aumenta y el diámetro se incrementa. Las inflorescencias de *B. bambusarum* son muy suculentas y los frutos, bayosos, son producidos en gran cantidad (obs. pers.). El mantenimiento y desarrollo de este tipo de estructuras requiere de un aporte considerable de agua y fotosintatos. Aparentemente, la parásita modifica los tejidos del hospedero de tal forma que, probablemente, pueda obtener mayor cantidad de recursos y sin limitaciones, para el desarrollo de sus estructuras reproductivas (como fue propuesto por García-Franco & Rico-Gray 1995a).



El arreglo de los vasos del xilema secundario en hileras radiales paralelo a los radios de la raíz de *B. simaruba* es un poco diferente al producido en los tallos de *Dalea emoryi*. Sin embargo, no existe ningún arreglo específico para vasos y radios en *Pilosyles thurberii*, ya que al ser parásita de estructuras aéreas del hospedero, las flores pueden emerger en cualquier dirección. En cambio las modificaciones de los vasos producido por *B. bambusarum* es en una sola dirección y tiene geotropismo negativo. De tal forma que al parasitar las raíces superficiales de *B. simaruba* (García-Franco & Rico-Gray en prensa), las estructuras reproductivas de *B. bambusarum* pueden alcanzar la superficie y participar en la reproducción. Este mismo comportamiento puede estar presente en otras especies de Rafflesiaceae que parasitan raíces como *Cytinus* y en otras holoparásitas de raíces como Orobanchaceae.

Rutherford (1970) considera que cualquier porción del sistema endófito de *P. thurberii* puede producir flores, pero la región de mayor producción de flores son los lugares cercanos al meristemo del hospedero, aunque las flores pueden ser ocasionalmente producidas en las porciones viejas del sistema endófito. Durante más de tres periodos reproductivos se han observado las inflorescencias de *B. bambusarum* desarrollándose abundantemente en los mismos sitios del bosque (García-Franco & Rico-Gray 1995a; obs. pers.), algunas de ellas al lado de las cicatrices florales dejadas en las raíces por las inflorescencias anteriores (García-Franco & Rico-Gray en prensa). Lo anterior sugiere que el sistema endófito de *B. bambusarum* funciona diferente al de *P. thurberii*; ésto es, la mayor producción de estructuras reproductivas de *B. bambusarum* ocurre en la misma sección "vieja" del sistema endófito (García-Franco & Rico-Gray 1995a). De igual forma, las flores de *T. aphyllus* se desarrollan en el sistema endófito "viejo" (Mauseth et al. 1985).

Las inflorescencias de *B. bambusarum* pueden desarrollarse en forma aislada o en grupos en la misma sección del hospedero (obs. pers.). Los análisis de genética de poblaciones indican que casi cada inflorescencia representa un individuo (García-Franco et al. prep.). Nosotros no pudimos darle seguimiento con precisión al sistema endófito en los tejidos del hospedero, por lo que no se pudo corroborar la independencia del sistema endófito de las inflorescencias. Es necesario realizar estudios específicos (v.gr. análisis de isozimas) para conocer la independencia entre inflorescencias de diferentes periodos reproductivos. Por otro lado, con base en las modificaciones que presenta el tejido parasitado, será posible realizar observaciones en raíces de diferente diámetro (y de ser posible de edad conocida), para determinar el tiempo de establecimiento de la parásita; ya que, este último puede ser muy diferente (en tiempo y condiciones fisiológicas de la raíz hospedera y del sistema endófito de la parásita) al requerido para que *B. bambusarum* desarrolle sus estructuras reproductivas.

Por último, existe gran variación en el número cromosómico de las especies de Rafflesiaceae (Tabla 3). El número cromosómico de *B. bambusarum* es semejante al que se ha registrado para las especies de *Rafflesia*. Las especies de algunos géneros tienen semejanza en su número cromosómico (*Rafflesia*, *Mitrastemon*); aunque en *Pilosyles* el

número de cromosomas de sus especies es diferente. La taxonomía de *Bdallophyton* no es clara, existiendo desacuerdo en el número de especies que contiene (García-Franco 1996). En general, el número cromosómico juega un papel especial como una fuente de datos comparativos en taxonomía (Stuessy 1990). La presencia de cromosomas B en *B. bambusarum* (y tal vez en otras especies del género) puede producir diferencias en los conteos cromosómicos y limitar su uso en el esclarecimiento taxonómico, debido a que los cromosomas B son inconsistentes en número y a su pequeño tamaño que los hace difíciles de distinguir (Vovides y Lascurain 1995; A. Vovides com. pers.);

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a C. Iglesias y A. Vovides su ayuda en el uso de las técnicas de microscopía empleadas. A C. Delfin la toma de fotografías en el microscopio. El estudio se realizó gracias al apoyo económico del Instituto de Ecología A. C. (cuenta 902-16).

## BIBLIOGRAFIA

- Berlym, G. P. & J. L. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa State University Press, Ames.
- Baird, W. V. & J. L. Riopel. 1986. The developmental anatomy of *Conopholis americana* (Orobanchaceae) seedlings and tubercles. *Canadian Journal of Botany* 64:710-717.
- García-Franco, J. G. & V. Rico-Gray. en prensa. Distribution and host specificity in the holoparasite *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) in a tropical dry forest in Veracruz, Mexico. *Biotropica*.
- García-Franco, J. G. & V. Rico-Gray. 1995a. Reproductive biology of the holoparasitic endophyte *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* (Ms 388 en revisión).
- García-Franco, J. G. & V. Rico-Gray. 1995b. Dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas de *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) en la costa de Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*. (en revisión).
- García-Franco, J. G., V. Souza, L. E. Eguiarte & V. Rico-Gray. (en preparación). Population genetics of the tropical holoparasitic endophyte *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany*.
- Gedalovich-Shedletzky, E. & J. Kuijt. 1990. An ultrastructural study of the tuber strands of *Balanophora* (Balanophoraceae). *Canadian Journal of Botany* 68:1271-1279.
- Hsiao, S.C., J.D. Mauseth & L.D. Gómez. 1993. Growth and anatomy of the vegetative body of the parasitic angiosperm *Helosis cayennensis* (Balanophoraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 120:295-309.
- Hsiao, S.C., J.D. Mauseth & L.D. Gómez. 1994. Growth and anatomy of the vegetative body of the parasitic angiosperm *Langsdorffia hypogae* (Balanophoraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 121:24-39.
- Hsiao, S.C., J.D. Mauseth & C.I. Peng. 1995. Composite bundles, host/parasite interface in the holoparasitic angiosperms *Langsdorffia* and *Balanophora* (Balanophoraceae). *American Journal of Botany* 82:81-91.
- Kuijt, J. 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press. Berkeley and Los Angeles.
- Kuijt, J. & W-X Dong. 1990. Surface features of the leaves of Balanophoraceae - A family without stomata?. *Plant Systematic and Evolution* 170:29-35.

- Kuijt, J. & R. Toth. 1985. Structure of the host-parasite interface of *Boschniakia hookeri* Walpers (Orobanchaceae) surface features of the leaves of Balanophoraceae - A family without stomata?. *Plant Systematic and Evolution* 170:29-35.
- Lewis, A. M. & E. R. Boose. 1995. Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* 82:1112-1116.
- Mauseth, J. D., S. Hsiao & G. Montenegro. 1992. Vegetative body of the parasitic angiosperm *Ombrophytum subterraneum* (Balanophoraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 119(4):407-417.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro & A. M. Walckowiak. 1984. Studies of the holoparasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) infecting *Trichocereus chilensis* (Cactaceae). *Canadian Journal of Botany* 62:847-857.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro, & A. M. Walckowiak. 1985. Host infection and flower formation by the parasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany* 63:567-581.
- Meijer, W. Rafflesiaceae. 1993. In: K. Kubitzki (ed.), *The families and genera of vascular plants*. Springer Verlag, Berlin.
- Meijer, W., & S. Elliot. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Natural History Bulletin of Siam. Society* 38:117-133.
- Olah, L. v. 1960. Cytological and morphological investigations in *Rafflesia arnoldi* R. Br. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 87:406-416.
- Press, M. C. 1989. Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology and Evolution* 4:258-263.
- Stace, C. A. 1989. *Plant taxonomy and biosystematics*. Cambridge University Press, New York.
- Stewart, G. R. & M. C. Press. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41:127-151.
- Stuessy, T. F. 1990. *Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data*. Columbia University Press, New York.
- Rutherford, R. J. 1970. The anatomy and cytology of *Pilosyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae). *Aliso* 7:263-288.
- Vovides, A. P. & M. Lascrain. 1995. Números cromosómicos de cuatro especies de *Costus* (Costaceae), una de *Calathea*, una *Maranta* y una de *Stromanthe* (Maranthaceae). *Acta Botánica Mexicana* 33:81-86.
- Wheeler, E. A. 1986. Vessels per square millimetre or vessel groups per square millimetre? *IAWA Bulletin* n.s. 7:73.74

Tabla 1. a) Diámetro radial (D), diámetro tangencial (d), área (A), perímetro (P) y diámetro (Dh), de los vasos del xilema en raíces de *B. simaruba* no infectadas e infectadas por *B. bambusarum*. b) Diámetro mayor (D), diámetro menor (d), área (A), perímetro (P) y diámetro (Dh), en raíces infectadas de *B. simaruba* con y sin el inicio del desarrollo de los botones florales. (valores en  $\mu\text{m}$ )

Tipo de raíz	D/d	A*	P*	Dh*
a)				
No infectadas	1.21 (0.20)	11923.30 (3430.05)	128.17 (39.39)	374.16 (67.78)
Infectadas	1.46 (0.40)	2972.25 (1201.79)	198.41 (45.46)	96.50 (39.5)
b)				
sin desarrollo botones	de 1.63 (0.42)	3609.99 (1068.28)	224.74 (37.03)	62.93 (10.12)
con desarrollo botones	de 1.47 (0.35)	1536.34 (528.75)	48.90 (21.18)	127.99 (28.47)

\*Mann-Whitney U  $P < 0.001$  (SigmaStat 1994)

Tabla 2. a) Número de vasos del xilema secundario en raíces de *B. simaruba* no parasitadas y parasitadas. b) Número de vasos del xilema secundario en raíces parasitadas sin y con el inicio del desarrollo de botones florales.

Tipo de raíz	No. de vasos/área muestreada
a)	
No parasitadas	25.7 $\pm$ 6.53 (12)
Parasitadas	51.9 $\pm$ 32.88 (10)
b)	
Parasitadas sin desarrollo	27.3 $\pm$ 6.56 (6)
Parasitadas con desarrollo	88.8 $\pm$ 12.37 (4)

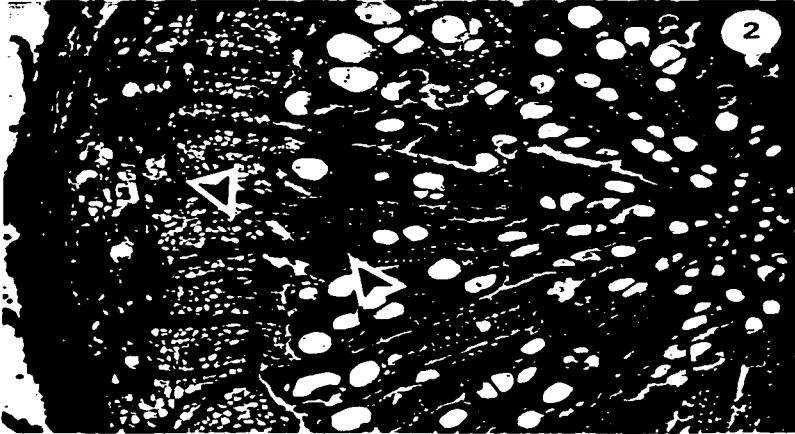
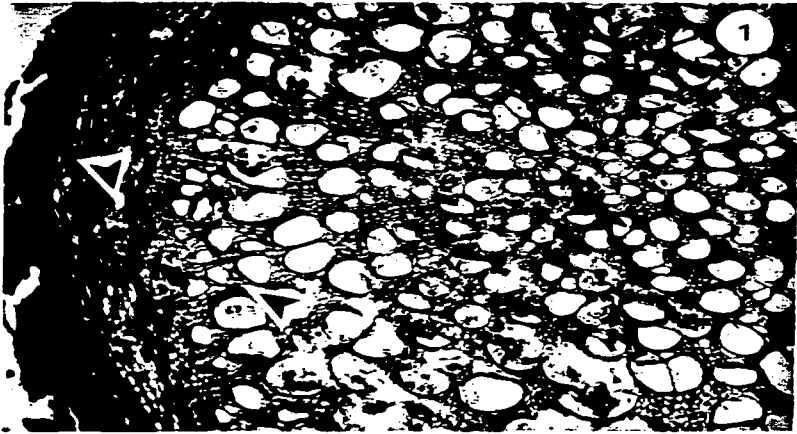
t  $P < 0.05$ ; t  $P < 0.001$

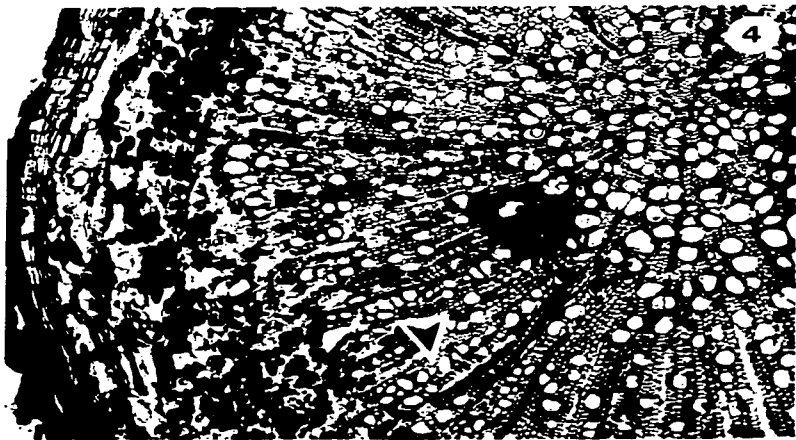
Tabla 3. Número cromosómico de *B. bambusarum* comparado con algunas otras especies de Rafflesiaceae

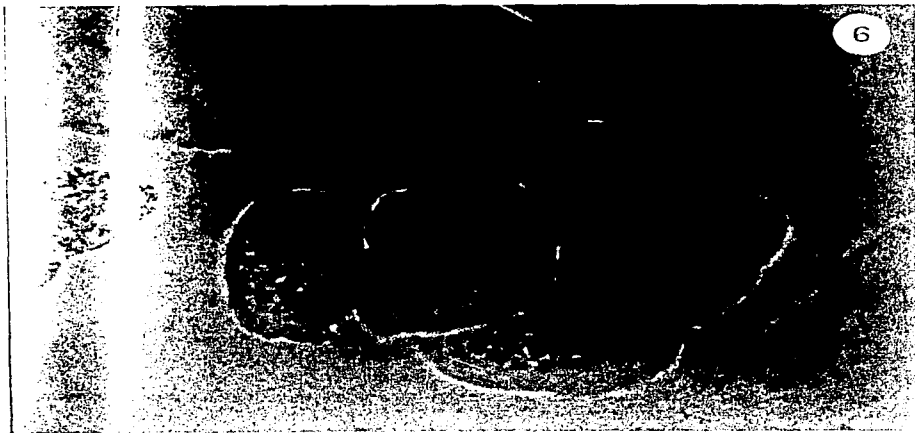
Especie	No.	2n	Fuente
<i>Bdallophyton bambusarum</i> Lieb.	12 + 1	24 + 1B	este estudio
<i>Cytinus hypocistis</i>	16		Meijer 1993
<i>Mitrostemon kawa-sasaki</i> Hayata	20		Watanab, 1935
<i>Mitrostemon yamamotoi</i> Mak.	20	40	Watanab, 1934
<i>Pilostyles berterii</i> Guill.	6	$\pm$ 12	Kummer, 1962
<i>Pilostyles thurberi</i> Gray	30 + 0-2	60 + 0-1B	Rutherford 1970
<i>Rafflesia arnoldi</i> R. Br.	12		Ola, 1960
<i>Rafflesia patma</i> Bl.	12		Ernst & Schmi, 1913
<i>Rhizanthus</i> sp.	11		Meijer 1993

### Leyenda de Figuras

- Figura 1. Corte transversal de una raíz sana de *B. simaruba*. Las flechas muestran el floema y el xilema secundario. (40x).
- Figura 2. Corte transversal de una raíz parasitada por *B. bambusarum*. Las flechas indican el floema y el xilema secundario. (40x).
- Figura 3. Corte tangencial de una raíz parasitada con el inicio del desarrollo de un botón floral de *B. bambusarum*. (16x)
- Figura 4. Corte transversal de una raíz parasitada por *B. bambusarum* mostrando el arreglo en hileras radiales de los vasos hacia donde se inicia el crecimiento de los botones florales. (40x).
- Figuras 5 y 6. Células de *B. bambusarum* en estado de telofase y metafase temprana mostrando los cromosomas.









## **CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES GENERALES**

La biología de las angiospermas parásitas no está bien conocida, a pesar de ser un tipo de interacción con amplia distribución y presentarse en todos los ambientes (Press, 1989). Estas plantas han evolucionado una serie de características anatómico-fisiológicas que les permiten reconocer al hospedero apropiado, adecuarse a su metabolismo, evitar su sistema de defensa y aprovechar todos sus recursos para sobrevivir; además de contrarrestar el ataque de sus enemigos naturales. Esto es particularmente importante en las especies holoparásitas endófitas, ya que se encuentran completamente dentro del cuerpo del hospedero y, por consiguiente, están sujetas a presiones de selección diferentes a las que experimentan las exoparásitas (hemiparásitas y holoparásitas). La misma naturaleza "compleja" de la forma de vida de las endoparásitas, no permite desarrollar investigaciones sin que se tengan que enfrentar serios problemas metodológicos en su proceso (ver Mauseth et al., 1984, Beaman et al., 1988 y Meijer y Elliot, 1990). Los estudios realizados en éste tipo de plantas (v.g., Mauseth et al., 1984, 1985; Meijer y Elliot, 1990; Kuijt y Dong, 1990; Emmons et al., 1991) se han encaminado a conocer aspectos específicos de la biología de una especie en particular. De tal suerte, que muchos procesos siguen sin entenderse adecuadamente y el conocimiento global de cualquier especie de holoparásita endófitas es limitado.

En el presente trabajo se estudiaron diferentes aspectos de la (historia natural) biología de *Bdallophyton bambusarum* Liebm. (Rafflesiaceae) (ver Objetivos en el Capítulo 1), tratando con ello de obtener una idea global de su biología evolutiva. Se determinó que *B. bambusarum* es parásita específica de las raíces delgadas y superficiales de *Bursera simaruba*; de igual forma que se ha registrado especificidad por hospedero en otras holoparásitas endófitas como, *Conopholis americana* (Orobanchaceae) que es parásita de raíces de *Quercus borealis* (Fagaceae) (Stewart y Press, 1990). Thompson (1994) señala que la especificidad en la relación parasítica es la norma más que la excepción. En muchos casos de especies de parásitos con diferentes especies de hospederos se han encontrado complejos patrones geográficos de especialización entre especies, subespecies o razas ecológicas (Thompson, 1994, M. Meijer com. pers.). Por otro lado, se ha encontrado en otros taxa, que el tamaño del cuerpo del parásito, el tipo de parásito (endófito o exófito) y el tiempo (evolutivo) que ha durado la relación parasítica en un sólo hospedero, son determinantes en el desarrollo de especificidad (Thompson, 1994 y referencias en él).

El sistema endófito de *B. bambusarum* es muy reducido y se localiza en el floema y el xilema secundario dentro de las raíces de *B. simaruba*, su ubicación es muy semejante a la del sistema endófito de *Pilostyles thurberii* Gray (Rafflesiaceae) y *Tristerix aphyllum* (D.C.) Barlow (Loranthaceae) (Rutherford, 1970, Mauseth et al., 1984). Esta distribución le permite a las células de la parásita estar en contacto principalmente con los flujos de fotosintatos. De tal forma que la información ambiental es filtrada a través del hospedero y detectada por la parásita por medio de los cambios que se producen en su fisiología (v.g., estacionalidad, largo de los periodos de luz y oscuridad) (Mauseth et al. 1984), aprovechando el mayor flujo de las sustancias reguladoras, por ejemplo, de la floración. La

coincidencia de la floración de *B. bambusarum* con la de *B. simaruba* sugiere que la parásita utiliza las sustancias promotoras de la floración del hospedero (v.g., hormonas, nitrógeno). Durante este último periodo, el desarrollo de las estructuras reproductivas se manifiesta con modificación del tejido vascular del hospedero (xilema secundario), vasos en hileras radiales con geotropismo negativo. Esto es importante para la parásita por tres razones: a) la reducción del diámetro de los vasos reduce la tasa del flujo de nutrientes, lo que permite a la parásita obtener ilimitadamente todos los recursos necesarios para mantener sus costosas estructuras reproductivas (inflorescencias suculentas y frutos bayosos); b) la modificación de los vasos en hileras radiales puede ser considerado como un sistema de "anclaje" para las inflorescencias e infrutescencias de *B. bambusarum* y dirige los recursos provenientes del hospedero hacia ellas, y c) el geotropismo negativo orienta el desarrollo de las estructuras reproductivas hacia la superficie. Lo mencionado en éste último inciso, junto con la escasa profundidad de las raíces parasitadas de *B. simaruba* permite que las inflorescencias (masculinas y femeninas) de *B. bambusarum* alcancen la superficie y participen en la reproducción. En caso de no alcanzar la superficie, las inflorescencias se desarrollan "normalmente" pero no contribuyen en el flujo genético. Aunque la mayor parte del movimiento de polen se realiza dentro de las subpoblaciones, lo que sugiere que éstas son panmícticas (el mayor flujo genético se da dentro de las subpoblaciones), algunos polinizadores como *Peckya* spp., pueden desplazar el polen entre las subpoblaciones, permitiendo con ello una similitud genética entre ellas. La abundancia de moscas carroñeras en la selva subcaducifolia de La Mancha permite que *B. bambusarum* tenga un gran éxito reproductivo. La gran diversidad genética encontrada y los análisis efectuados para cada una de las subpoblaciones estudiadas, indica que "casi" cada inflorescencia representa un individuo, sin importar su sexo, localización dentro de la subpoblación y distancia entre otra(s) inflorescencia(s). Por un lado, ésto indica que el sistema endófito de cada uno de los "individuos" de *B. bambusarum* tiene un reducido desplazamiento dentro de los tejidos del hospedero; lo que es opuesto a lo registrado para la holoparásita *Tristerix aphyllum*, cuyo sistema endófito se puede distribuir a lo largo de 2-3 m dentro del cuerpo de su hospedero (Mauseth et al. 1984). Por otro lado, indica individualidad de las inflorescencias aunque éstas se desarrollen agrupadas; contrario a la idea de Kuijt (1979) de que una masa de flores puede ser producto de un sólo individuo. La constante presencia de inflorescencias de los dos sexos en las subpoblaciones de *B. bambusarum* registradas sugiere que la planta es perenne o clonal; sin embargo, se desconoce la longevidad del sistema endófito ni el tiempo requerido a partir de la infección, para que se reproduzca por primera vez. El sistema endófito de *Tristerix aphyllum* permanece 19-28 años antes de presentar el primer periodo reproductivo (Mauseth et al., 1985). El tiempo prereproductivo en *B. bambusarum* podría limitar la contribución genética de los reclutamientos en las subpoblaciones.

En La Mancha, aparentemente, las condiciones que presenta el suelo de la selva mediana subcaducifolia (v.gr., textura) junto con otros factores (v.g., estacionalidad), permiten que la relación *Bdallophyton bambusarum* - *Bursera simaruba* se pueda dar y, también determina que ésta se presente únicamente en algunos sitios. La dispersión de las

semillas de *B. bambusarum* no es grande; pero una vez que éstas son dispersadas pueden permanecer en el banco de semillas en los alrededores de las subpoblaciones. Las características del suelo (arenoso no compacto), que afectan la infiltración de las semillas; pueden permitir que éstas alcancen a las raíces relativamente jóvenes y poco profundas de *B. simaruba*. La ubicación de las raíces finas de *B. simaruba* en el suelo, su forma de crecimiento y los estímulos químicos, que se presupone exhuden, son los medios de selección para que *B. bambusarum* las localice, identifique y parasite. El requerimiento de estímulos químicos específicos del hospedero para que las semillas de las parásitas inicien la germinación y el desarrollo del haustorio señalado por Stewart y Press (1989), es extremadamente particular en *B. bambusarum*; y probablemente presentes únicamente en alguna etapa de crecimiento del hospedero o durante el desarrollo de las estructuras que son parasitadas. La susceptibilidad de infección de los hospederos puede ser solamente en una corta fracción de su ciclo de vida (Ennos, 1992). La germinación e introducción en el hospedero son aspectos prioritarios en la selección del hospedero y, finalmente, dependerán del genoma de los participantes; esto es, de la susceptibilidad-resistencia del hospedero y de la virulencia del parásito. El entendimiento de éstos últimos aspectos forman parte fundamental de la biología de *B. bambusarum*; y en general de cualquier especie; por ello, son estudiados en otras especies de parásitas que son plagas de cultivos para conocer la forma de su control (Press y Graves, 1989).

Aparentemente, la selección de un sólo hospedero, la reducción significativa en sus estructuras vegetativas y corta vida en relación a sus hospederos, les ha permitido a las endoparásitas adecuarse más fácilmente a un sistema metabólico (defensas y fotosintetatos), al tener diferentes eventos reproductivos por muchas generaciones cambiando a través del tiempo por recombinaciones, mientras que el genotipo del hospedero permanece estable (Thompson, 1982 y referencias en él). Debido a lo extenso que puede ser el sistema radicular en un árbol tropical, es probable que *B. bambusarum* no esté causando una reducción significativa en la adecuación de los individuos de *B. simaruba* parasitados. De tal forma que como parásito obligado, la adecuación de la parásita dependerá de su habilidad para permitir la sobrevivencia de su hospedero (Barret, 1983). Sin embargo, algunos aspectos de la biología de *B. bambusarum*, como la longevidad de los individuos, y otros, como las condiciones de germinación de las semillas, podrían modificar las condiciones de adecuación que pueda presentar el parásito. Esto es, individuos longevos y escasos reclutamientos pueden influir en las recombinaciones reales que se den en la población.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Barret, J. A. 1983. Plant-fungus symbiosis. In: D. J. Futuyma y M. Slatkin (eds.), *Coevolution*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Beaman, R. S., P. J. Decker y J. H. Beaman. 1988. Pollination of *Rafflesia* (Rafflesiaceae). *American Journal of Botany* 75: 1148-1162.
- Emmons, L. H., J. Nias y A. Briun. 1991. The fruit and consumers of *Rafflesia keithii* (Rafflesiaceae). *Biotropica* 23:197-199.

- Ennos, R. 1992. Ecological genetics of parasitism. In: R. J. Berry, T. J. Crawford y G. M. Hewitt (eds.), *Genes in ecology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Kuijt, J. y W-X. Dong. 1990. Surface features of the leaves of Balanophoraceae - A family without stomata? *Plant Systematic and Evolution* 170:29-35.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro y A. M. Walckowiak. 1984. Studies of the holoparasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) infecting *Trichocereus chilensis* (Cactaceae). *Canadian Journal of Botany* 62:847-857.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro y A. M. Walckowiak. 1985. Host infection and flower formation by the parasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany* 63:567-581.
- Meijer, W. y S. Elliot. 1990. Taxonomy, ecology and conservation of *Rafflesia kerri* Meijer in southern Thailand. *Natural History Bulletin Siam Society* 38:117-133.
- Press, M. C. 1989. Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology and Evolution* 4:258-263.
- Press, M. C. y J. Graves. 1989. Punishment for suckers. *New Scientist* 123(1680):55-58.
- Stewart, G. R. y M. C. Press. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41:127-151.
- Rutherford, R. J. 1970. The anatomy and citology of *Pilosyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae). *Aliso* 7:263-288.
- Thompson, J. N. 1982. *Interaction and coevolution*. Wiley-Interscience. New York.
- Thompson, J. N. 1994. *The coevolutionary process*. The University of Chicago Press. Chicago and London.

## APÉNDICES

- 1.- Grupo de inflorescencias masculinas de **Bdallophyton bambusarum** en el suelo de la selva mediana subperennifolia de CICOLMA.
- 2.- Inflorescencia femenina de **Bdallophyton bambusarum** en el suelo de la selva mediana subperennifolia de CICOLMA.
- 3.- Infrutescencias de **Bdallophyton bambusarum**. Una de las infrutescencias con señas de forrajeo.
- 4.- Algunos visitantes (Dipetera e Hymenoptera) de las flores de **Bdallophyton bambusarum**. **Peckia** sp. (a) y **Perckyamia** sp. polinizadores de **B. bambusarum**. **Perckyamia** sp. con polen en el dorso.
- 5.- Contenedores empleados para captar los exhudados de las raíces de plántulas de **Bursera simaruba** en la prueba de germinación de las semillas de **Bdallophyton bambusarum**.
- 6.- Semilla de **Bdallophyton bambusarum** (barra 0.1 mm).
- 7 y 8.- Semillas de **Bdallophyton bambusarum** en las pruebas de germinación. La flecha señala una de las semillas que rompieron la testa en los experimentos realizados (barras 0.357 mm).

