PENETRAÇÃODO HAUSTÓRIO SECUNDÁRIO DE *PHTHIRUSA OVATA* (POHL *EX* DC.) EICHLER (LORANTHACEAE) EM *DALBERGIA MISCOLOBIUM* BENTH. (FABACEAE)

Izabelly S. Sant'Ana
Programa de Pós-graduação em Botânica – Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília-DF
izabellyss@hotmail.com

José G. A. de Paiva
Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

Dalva Graciano-Ribeiro
Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

Augusto C. Franco
Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

RESUMO - Raízes epicorticais (RE) são órgãos laterais de hemiparasitas aéreas e delas se originam múltiplos haustórios secundários, o que é vantajoso por aumentar a ancoragem e permitir reprodução vegetativa dessas plantas, contudo, o processo de penetração desse haustório ainda não é conhecido em detalhes. Este trabalho teve como objetivo ~~de~~ descrever a via de penetração do haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl *ex* DC.) Eichler sobre *Dalbergia miscolobium* Benth. e também as modificações nas duas plantas durante esse processo. O haustório secundário de *P. ovata* adere e penetra na região das lenticelas de galhos mais finos da hospedeira; e em galhos mais grossos e fissurados de *D. miscolobium*, ele se projeta entre as fissuras da casca da hospedeira. Simultâneo a esse processo, ocorrem modificações nas células epidérmicas e corticais que estão no lado contato com a hospedeira. Ao ocorrer esse contato, a ruptura da periderme e do tecido cortical da hospedeira se dá entre as fibras pericíclicas dessa, acompanhada pela entrada de células iniciais e células cristarque. Sugere-se que a presença de lenticelas e fissuras na casca da hospedeira facilite a penetração de hemiparasitas.

Palavras-chave: Cerrado, hemiparasita aérea, característica da casca, lenticelas.

INTRODUÇÃO

O haustório é característica comum de todas as plantas angiospermas que possuem o hábito parasita. Esse é o órgão responsável pela penetração direta dos tecidos da hospedeira e posterior condução de água e nutrientes para a parasita pela conexão célula-célula estabelecida entre as duas plantas (Kuijt 1969). Entre os tipos de haustórios encontrados na família Loranthaceae, as raízes epicorticais (RE) formam conexões múltiplas e visíveis com suas hospedeiras diferente dos outros tipos que formam "uniões solitárias" que parecem ter apenas uma única ligação com a hospedeira (Calvin & Wilson 2006).

As conexões haustoriais das RE também são chamadas de haustórios secundários. Isso porque haustórios primários são apenas aqueles advindos diretamente do meristema apical da radícula da plântula parasita, sendo os haustórios secundários originados das RE que são órgãos laterais (Kuijt 1965; Devkota & Glatzel 2007). Os muitos haustórios secundários das plantas com RE permite a fixação com mais segurança na hospedeira (Kuijt 1964). Além disso, há reprodução vegetativa em hemiparasitas aéreas por meio das RE (Devkota & Glatzel 2007) que aumenta a sua capacidade competitiva por luz, ao permitiruma posição fotossintética mais vantajosa na copa da hospedeira do que no local de fixação primária (Kuijt 1969).

Embora distinto em origem tecidual, o haustório secundário se comporta como o primário. Eles são constituídos pelo haustório superior (exófito) e o endófito que são respectivamente a região do haustório externa a hospedeira e a que penetra e conecta-se ao tecido vascular da hospedeira (Kuijt 1977).

Os processos de adesão e penetração no galho hospedeiro ainda não são conhecidos em detalhes, embora seja conhecido que a espessura do galho (Sargent 1995) e característica do ritidoma (Arruda *et al.* 2006) tenham efeito significativo nesses processos. Além disso, sabe-se que modificações nas células da hemiparasita que perfazem o contato ocorrem (Venturelli & Kraus 1989) e podem ser essenciais para o sucesso na penetração. A penetração é fundamental para que a hemiparasita se conecte a hospedeira e uma vez estabelecida, extraia os recursos essenciais para sua sobrevivência. Dada a importância desse gênero de Loranthaceae no Brasil (Caires *et al.* 2009) e do limitado conhecimento sobre esse processo, este trabalho tem o objetivo de descrever a via de penetração do haustório secundário de *Phthirusa ovata* em *Dalbergia miscolobium* e também as modificações nas duas plantas durante esse processo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas RE de *P. ovata* crescendo em galhos de *D. miscolobium*, que também foram coletados no *Campus* Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília, Brasília-DF e na Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE). Do material coletado e fixado em formaldeído 10%, foram cortadas regiões de grande adesão entre RE e galho da hospedeira e regiões adjacentes a haustórios

secundários. Essas partes foram incluídas em PEG4000 e seccionadas em cortes transversais para a RE e para o ramo da hospedeira no micrótomo de deslize com espessura entre 14 e 20 µm, utilizou-se fita adesiva transparente para adesão dos cortes, seguida da remoção do PEG (Paiva & Graciano-Ribeiro, *dados não publicados*). As secções foram submetidas à dupla coloração (safranina: azul de alcian –Kraus & Arduin 1997) e tripla coloração (violeta cristal: safranina: orange G Macêdo 1997, com modificações), em seguida desidratadas em série etílica e fixadas em soluções crescentes de etanol: xilol até xilol PA e montadas em resina sintética, conforme Paiva *et al.* (2006). As imagens foram obtidas com uso de câmera digital (Olympus C-7070) conectada a um microscópio óptico (Olympus CX31) ou com uso do fotomicroscópio (Leica Corporation LM745). Os ácidos acético glacial PA, clorídrico 10% e nítrico 10% foram usados para identificação da natureza dos cristais.

RESULTADOS

A emissão dos haustórios secundários de *P. ovata* ocorre pelas lenticelas encontradas em galhos jovens e finos da hospedeira *D. miscolobium* (**figura 1A, B**). Em ramos mais espessos da hospedeira, nota-se projeção da RE entre as fissuras na periderme da hospedeira.

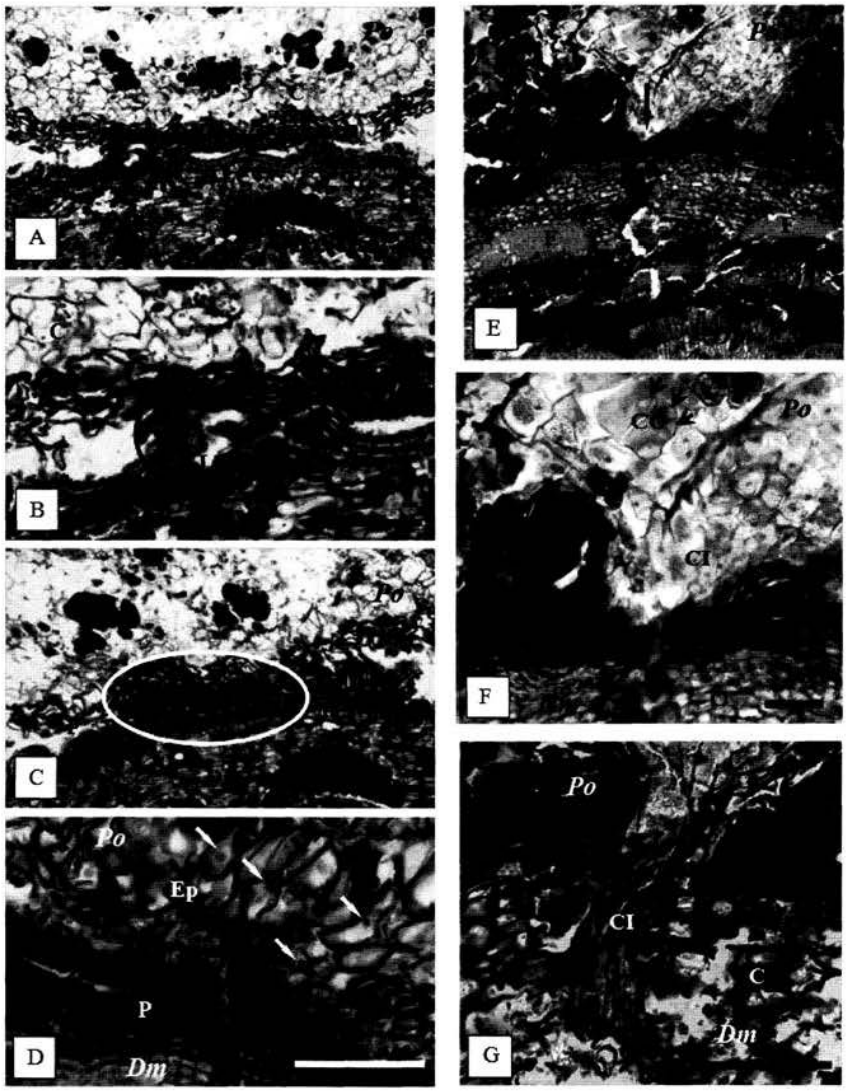

Figura 1.Adesão e penetração do haustório secundário de *P. ovata* (*Po*) em *D. miscolobium* (*Dm*) ambos sob secção transversal. **A**. RE de *P. ovata* projetando tecido epidérmico pela lenticela (seta) de *D. miscolobium*. **B**. Pormenor da projeção do tecido epidérmico de *P. ovata* pela lenticela (com círculo) da hospedeira. **C**. Tecido epidérmico de *P. ovata* entre e nas lenticelas de *D. miscolobium* (com círculo). **D**. Detalhe das células epidérmicas de *P. ovata* paliçádicas e com grande núcleo (setas) na região de contato com a casca de *D. miscolobium*. **E**. Ruptura da periderme e tecido cortical entre as fibras de *D. miscolobium*. Setas indicam extensão da ruptura. **F**. Detalhe das células iniciais do haustório seguida de células cristarque. **G**. Detalhe das células iniciais do haustório no córtex rompido da hospedeira. C- córtex;cabeça de seta- cristais; CI- células iniciais; CC- células cristarque; Ep- epiderme; F- fibras; Le- lenticela; P- periderme; X2- xilema secundário. Barra: 200µm em A–D; e 100um em E–G= 100µm. Tripla coloração em A–C, E–G; dupla coloração em D.

Células do sistema de revestimento e cortical de *P. ovata* que estão na região adjacente ao ramo da hospedeira se projetam, alterando o formato da RE, em direção à lenticela (**figura 1A, 1B**) e posteriormente comprimem essas regiões adjacentes a casca da hospedeira (**figura 1C**) e também entre fissuras de galhos da hospedeira mais desenvolvidos.

As células epidérmicas da hemiparasita se tornam alongadas e com núcleos proeminentes antes do rompimento peridérmico na hospedeira (**figura 1D**). A ruptura da periderme e tecido cortical de *D. miscolobium* ocorre entre as fibras pericíclicas (**fig. 1E**). Em algumas camadas acima da região a ser penetrada, há a diferenciação do tecido parenquimático em braquiesclereídes com cristais prismáticos de oxalato de cálcio (células cristarque) (**figura 1f**). As células parenquimáticas iniciais penetram na região cortical da hospedeira e se caracterizam pelo grande núcleo e conteúdo citoplasmático denso (**fig. 1G**). A penetração do haustório no parênquima cortical do órgão da hospedeira projeta-se em uma única direção. Contudo, após o rompimento do córtex na região contígua às fibras pericíclicas, as células da hemiparasita penetram em *D. miscolobium* em diferentes direções, através do floema e câmbio vascular rumo às camadas externas do xilema secundário.

DISCUSSÃO

Na espécie em estudo observou-se que a RE mantém-se contígua às fissuras do súber e a adesão e processo de penetração do haustório secundário ocorreram pelas lenticelas da planta hospedeira. Estudos anteriores sobre penetração haustorial e desenvolvimento das plântulas das hemiparasitas haviam verificado que esses processos estão relacionados às características dos galhos, localização na copa e tamanho (Sargent 1995; Cazetta & Galetti 2007). Segundo Sargent (1995), é a espessura da casca que pode favorecer a penetração da hemiparasita em galhos mais finos, pois é menor a resistência da casca à penetração. Tubeuf (1930 *apud* Rizzini 1951) afirma que a penetração de Loranthaceae pode ocorrer por fissuras existentes na epiderme da planta hospedeira. Contudo, o presente estudo é o primeiro relato de penetração pelas lenticelas da hospedeira. Lenticelas são regiões da casca de fácil comunicação entre o tecido interior e o ambiente, pois são ricas em espaços intercelulares, assim como as fissuras. Ambas são regiões menos espessas da casca, o que diminui a resistência da hospedeira à penetração da hemiparasita. Outras espécies hospedeiras de *P. ovata* (*Byrsonima verbascifolia* (L.) DC.e *B. coccolobifolia* Kunth (Malpighiaceae), *Miconia albicans* (Sw.) Steud. (Melastomataceae), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae), *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. (Styracaceae), *Qualea multiflora* Mart. e *Vochysia* Aubl. sp. (Vochysiaceae)) também apresentam os caracteres peridérmicos supracitados, ou seja, lenticelas e fissuras na casca.

Assim como *P. ovata*, a hemiparasita *Struthanthus* aff. *polyanthus* Mart., também estudada numa área de Cerrado, apresentou-se preferencialmente em espécies hospedeiras de casca "rugosa" – incluindo nesta definição galho fissurado, fendido ou estriado (Arruda *et al.* 2006). Os autores sugeriram que a menor quantidade de reentrâncias de um galho liso é mais eficiente na remoção das sementes do que em galhos rugosos. Assim como um ramo fissurado pode aumentar a aderência das sementes de hemiparasitas, essas fissuras podem também facilitar a penetração dos haustórios secundários. De acordo com o descrito acima, as áreas de fragilidade na casca da hospedeira (lenticelas e fissuras) em contato próximo à RE da hemiparasita são pressionadas mecanicamente por essa. Além do íntimo contato da RE com áreas menos espessas da casca da hospedeira que favorece a penetração, as células epidérmicas em contato com a hospedeira modificam o formato, e provavelmente, desempenham papel importante na fixação da parasita sobre a hospedeira (Kuijt 1971, Dobbins & Kuijt 1974, Venturelli 1980).

Antes que haja a penetração do haustório de *P. ovata* na hospedeira, foram verificadas zonas colapsadas na região cortical da RE e aglomerados de células cristarque. Essas características também foram encontradas por Venturelli e Kraus (1989) no haustório primário de *S. vulgaris*, com a distinção que ao invés de células cristarque, esses autores encontraram aglomerados de esclereídes. Esses são muito comuns neste ponto de entrada em hemiparasitas aéreas (dados revisados por Kuijt 1969).

Quanto às zonas colapsadas, essas são similares às raízes contráteis (Thoday 1951). A contração dessas camadas de células pode ter influência para o sucesso do órgão intrusivo já que elas podem se expandir radialmente e contrair longitudinalmente, gerando força e pressão sobre o tecido peridérmico da hospedeira, uma vez que a penetração rumo ao tecido xilemático deve ser rápida e eficiente (Kuijt 1965). Como resultado à pressão para penetração da hemiparasita, pode-se observar que há a ruptura do sistema de revestimento epidérmico ou peridérmico da hospedeira, e também de tecidos mais internos, como o córtex e floema secundário de *D. miscolobium*. Após a penetração, o crescimento do órgão intrusivo de *P. ovata* tende em direção ao lenho da hospedeira, como revisado por Rizzini (1951) para o desenvolvimento do haustório do gênero *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) e encontrado em estudos que reportaram o desenvolvimento haustorial (Toth & Kuijt 1976). Em caso de ação enzimática pela hemiparasita, haveria fragmentos celulares (Kuijt 1977) de *D. miscolobium* na região de penetração provenientes da lise celular. Contudo em *P. ovata* não há evidências de mecanismos químicos envolvidos na ruptura dos tecidos hospedeiros. Padrão semelhante de ruptura mecânica foi relatado para outras hemiparasitas aéreas santaleanas (Mathiasen *et al.* 2008).

Os dados aqui reportados sugerem que presença de lenticelas e fissuras na casca da hospedeira facilite a penetração

de hemiparasitas em haustórios secundários. Durante o processo de penetração, as modificações estruturais nas células epidérmicas e corticais da hemiparasita, aqui encontradas e também relatadas em outros trabalhos, reforçam a importância delas para o sucesso da hemiparasita.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento a CAPES e ao DPP pelo apoio financeiro concedido em forma de bolsa à primeira autora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, R.; CARVALHO, L. N.; DEL-CLARO, K. Host specificity of a Brazilian mistletoe, *Struthanthus*aff. *polyanthus* (Loranthaceae), *In:* cerrado tropical savanna. **Flora** 201: 127-134, 2006.

CAIRES, C. S.; UCHÔA-FERNANDES, M. A.; NICÁCIO, J.; STRIKIS, P. C. Frugivoria de larvas de *Neosilba* McAlpine (Diptera, Lonchaeidae) sobre *Psittacanthus plagiophyllus* Eichler (Santalales, Loranthaceae) no sudoeste de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista brasileira de Entomologia** 53(2): 272-277, 2009.

CALVIN, C. L.; WILSON, C. A. Comparative morphology of epicortical roots in Old and New World Loranthaceae with reference to root types, origin, patterns of longitudinal extension and potential for clonal growth. **Flora** 201: 51-64, 2006.

CAZETTA, E.; GALETTI, M. Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-de-passarinho *Phoradendronrubrum* (L.) Griseb. (Viscaceae). **Revista brasileira de Botânica** 30(2): 345-351, 2007.

DEVKOTA, M. P.; GLATZEL, G. Comparative haustorium morphology and vegetative reproduction in the Old World genus *Scurrula* L. (Loranthaceae) from the Central Nepal Himalayas. **Flora** 202: 179-193, 2007.

DOBBINS, R. D.; KUIJT, J. Anatomy and fine structure of the mistetloehaustorium (*Phthirusa pyrifolia*). II. Penetration attempts and formation of the gland. **Amerian Journal of Botany** 61(5): 544-550, 1974.

KRAUS, J. E.; ARDUIN M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.

KUIJT, J. Critical observation on the parasitism of new world mistletoes. **Canadian Journal of Botany** 42: 1243-1278, 1964.

KUIJT, J. On the nature and action of the Santaleanhaustorium, as exemplified by *Phthirusa* and *Antidaphne* (Loranthaceae). **Acta Botanica Neerlandica** 14: 278-307, 1965.

KUIJT, J. The Biology of Parasitic Flowering Plants. *In*: **The haustorium**. California: University of California Press, Ltd, 1969, p. 158-190.

KUIJT, J. Notes on the seedling and early primary haustorium of *Struthanthus quercicola* (Loranthaceae). **Acta Botanica Neerlandica** 20(5): 467-474, 1971.

KUIJT, J. Haustoria of phanerogamic parasites. **Annual Review of Phytopathology** 17: 91-118, 1977.

MACÊDO, N. A. **Manual de técnicas em histologia vegetal**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 997.

MATHIASEN, R. L.; NICKRENT, D. L.; SHAW, D. C.; WATSON D. M. Mistletoes: Pathology, systematics, ecology, and management. **Plant Disease** 92(7): 988-1006, 2008.

PAIVA, J. G. A; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasilica** 20(2): 257-264, 2006.

RIZZINI, C. T. O parasitismo de "Loranthaceae" sobre monocotiledôneos. **Revista Brasileira de Biologia** 11 (3): 289-302, 1951.

SARGENT, S. Seed Fate in a Tropical Mistletoe: The Importance of Host Twig Size. **Function Ecology** 9(2): 197–204, 1995.

THODAY, D. The haustorial system of *Viscum album*. **Journal of Experimental Botany** 2: 1-19, 1951.

TOTH, R.; KUIJT, J. Anatomy and ultrastructure of the haustorium in *Comandra* (Santalaceae). **Canadian Journal of Botany** 55: 455-469, 1976.

VENTURELLI, M. Desenvolvimento anatômico do haustório primário de *Struthanthus vulgaris* Mart. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 8: 47–64, 1980.

VENTURELLI, M.; KRAUS, J. E. Morphological and anatomical aspects of the primary haustorium *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae) *in vitro*. **Revista Brasileira e Botânica**12: 17-22, 1989.