



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Programa de Pós-Graduação em Botânica

**Anatomia do haustório secundário da hemiparasita
Phthirusa ovata (Pohl ex DC.) Eichler, respostas
fisiológicas e seus efeitos em distintas hospedeiras**

Izabelly Saraiva Sant'Ana

Brasília-DF
Julho, 2012.



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Programa de Pós-Graduação em Botânica

**Anatomia do haustório secundário da hemiparasita
Phthirusa ovata (Pohl ex DC.) Eichler, respostas
fisiológicas e seus efeitos em distintas hospedeiras**

Izabelly Saraiva Sant'Ana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientador: Prof. Augusto Cesar Franco, PhD.

Brasília-DF

Julho, 2012.

Izabelly Saraiva Sant’Ana

Anatomia do haustório secundário da hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler, respostas fisiológicas e seus efeitos em distintas hospedeiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

PhD. Augusto Cesar Franco
Universidade de Brasília – UnB
(Orientador, Presidente da Banca Examinadora)

Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
(Membro externo da Banca Examinadora)

Dr. Frederico Scherr Caldeira Takahashi
Universidade de Brasília – UnB
(Membro externo da Banca Examinadora)

Dra. Nádia Sílvia Dalla Nora Somavilla
Universidade de Brasília – UnB
(Membro Suplente da Banca Examinadora)

Brasília, julho de 2012.

Dedicatória

Dedico a mulher mais doce e forte, mais perseverante e corajosa, mais justa e sábia, mais companheira e feliz que conheci na minha vida: à Abigail Pimentel de Sant'Ana (minha avó, in memoriam) e a agradeço por todo amor, ensinamento e fé.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus, pelos dons da vida, fé, força e esperança.

Agradeço principalmente à minha mãe, por todo incentivo ao meu trabalho, sempre acreditando na minha capacidade e sempre do meu lado em minhas decisões. À minha amada irmã Bárbara, por todo amor, apoio e compreensão e ao meu padrasto Chaguinha, pelos conselhos e incentivo.

Agradeço especialmente, ao meu orientador prof. Augusto C. Franco, por todas as oportunidades, ensinamento transmitido, confiança, orientação e auxílio em todas as etapas desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica por todo apoio e oportunidades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo, que foi fundamental para realização do trabalho e ao CNPq pelo financiamento de projetos de pesquisa que permitiram adquirir recursos e equipamentos utilizados no meu trabalho.

À querida prof. Dra. Lourdes I. V. do Amaral (*in memoriam*) por todos os seus ensinamentos, conselhos, bibliografias indicadas e amizade. Muito obrigada!

À professora Dra. Dalva Graciano-Ribeiro pela oportunidade de co-orientação, atenção, amizade e ter me ajudado a fazer um belíssimo trabalho.

Agradeço especialmente aos amigos Sarah, William, José Geraldo e Davi pelo companheirismo e ótima amizade, que tornaram a realização desse trabalho mais prazerosa.

Aos amigos do laboratório de Ecofisiologia Vegetal, por todas as conversas ecofisiológicas, ensino de técnicas, artigos, ideias, soluções, amizade e ajuda em campo. Em especial ao William por todo seu apoio, ajuda e paciência em campo e ao Davi pelos conselhos para realização do campo e ajuda na análise estatística.

Às “meninas” da bioquímica pelos momentos de descontração e as estagiárias Ana Luisa e Renata Aguiar pela ajuda na montagem das lâminas histológicas.

Aos companheiros da anatomia (Jessica, Zé, Silvia, Bruno e Maria Tereza) por toda a amizade e companhia. Em especial ao Zé, pelos ensinamentos, ajuda nas técnicas anatômicas e força e ao Bruno pela companhia.

À minha família, vó (*in memoriam*), tios, tias, primos e primas, afilhado, por toda a compreensão, incentivo e carinho. Peço desculpa pelas ausências.

Às minhas amigas, Carol, Didi, Milla, Elu, Jessikita e Verê, por vocês serem pessoas tão carinhosas, divertidas e cúmplices na minha vida.

À equipe da Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/ IBGE) pelo cuidado, atenção e gentileza, em especial, ao Cláudio pelos cafezinhos nos trabalhos de campo de madrugada.

Aos técnicos do laboratório de Microscopia Eletrônica da UnB e ao Sr. Wilson da Física-UnB por todo apoio técnico e operacional.

Aos técnicos e motoristas do laboratório de Ecofisiologia Vegetal e às técnicas do laboratório de Anatomia Vegetal.

Agradeço a todos os professores e pesquisadores que contribuíram para minha formação, conhecimento e pesquisa. Aqui relembro carinhosamente as professoras Dra. Regina Dalston e Dra. Melina Guimarães, minhas ex-orientadoras. E ainda a Dra. Josimara Rondon, por ter me enviado metodologias tão solícitamente para quantificação de amino compostos.

Aos professores que participaram da banca do projeto e resultados parciais do meu trabalho que agregaram sugestões e correções a este trabalho.

Epígrafe

“Não existe limite atingível para o que pode ser aprendido ou para como esta sabedoria pode ser colocada em prática.”

Vernon I. Cheadle

Sumário

INDICE.....	vii
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	ix
LISTA DE ANEXOS	xii
RESUMO	1
ABSTRACT	3
I. INTRODUÇÃO GERAL	5
II. OBJETIVO GERAL	9
III. ESPÉCIES ESTUDADAS	9
IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
Capítulo 1. Penetração, desenvolvimento e estrutura do haustório secundário de <i>Phthirusa ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler (Loranthaceae) em <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth. (Leguminosae)	18
1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1. <i>Material Vegetal</i>	21
2.2. <i>Secção do material em PEG</i>	22
2.3. <i>Secção do material em Parafina</i>	23
2.4. <i>Secção do material em Historresina</i>	23
2.5. <i>Testes histoquímicos</i>	23
2.6. <i>Fotodocumentação</i>	24
2.7. <i>Preparação e análise do material em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	24
3. RESULTADOS.....	25
3.1. <i>Descrição anatômica do caule de <u>Dalbergia miscolobium</u> Benth.</i>	25
3.2. <i>Descrição anatômica da raiz epicortical de <u>Phthirusa ovata</u> (Pohl ex DC.) Eichler</i>	27
3.3. <i>Anatomia do haustório secundário de <u>Phthirusa ovata</u> (Pohl ex DC.) Eichler</i>	29
4. DISCUSSÃO	38
4.1. <i>Raiz epicortical de <u>Phthirusa ovata</u> (Pohl ex DC.) Eichler</i>	38

4.2. Penetração do haustório de <i>Phthirusa ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler	39
4.3. Estrutura e desenvolvimento do haustório secundário de <i>Phthirusa ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler.....	42
4.4. Interface de contato hemiparasita-hospedeira	44
4.5. Resposta da hospedeira <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth. ao parasitismo	46
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
Capítulo 2. Respostas fisiológicas da hemiparasita <i>Phthirusa ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler em hospedeira fixadora e não-fixadora de nitrogênio e implicações do parasitismo.....	54
1. INTRODUÇÃO	55
2. HIPÓTESES	58
3. MATERIAL E MÉTODOS	58
3.1. Área de estudo e amostragem de indivíduos.....	58
3.2. Medidas de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila a.....	61
3.3. Potencial hídrico.....	63
3.4. Pigmentos Fotossintéticos.....	63
3.5. Análise de Nutrientes Foliare.....	64
3.6. Análise Estatística.....	64
4. RESULTADOS.....	65
4.1. Potencial hídrico foliar.....	65
4.2. Nutrientes foliares	67
4.3. Pigmentos fotossintéticos	72
4.4. Trocas gasosas.....	76
4.5. Fluorescência da clorofila a	83
5. DISCUSSÃO	85
5.1. Potencial hídrico.....	85
5.2. Nutrientes foliares.....	87
5.3. Pigmentos fotossintéticos	89
5.4. Trocas gasosas.....	91
5.5. Fluorescência da clorofila a	93
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

LISTA FIGURAS E TABELAS

ESPÉCIES ESTUDADAS

Figura 1. Haustório primário e secundário de <i>P. ovata</i>	10
---	-----------

CAPÍTULO 1

Fig. 1 Secção transversal do caule em crescimento secundário de <i>D. miscolobium</i>	26
Fig. 2 Secção transversal da raiz epicortical em início de crescimento secundário de <i>P. ovata</i>	28
Fig. 3 Raízes epicorticais de <i>P. ovata</i>	29
Fig. 4 Secção transversal da emissão do haustório secundário de <i>P. ovata</i> em <i>D. miscolobium</i>	30
Fig. 5 Penetração de <i>P. ovata</i> em <i>D. miscolobium</i>	32
Fig. 6 Diferenciação do endófito de <i>P. ovata</i>	34
Fig. 7 Células sugadoras de <i>P. ovata</i>	36
Fig. 8 Micromorfologia das células sugadoras de <i>P. ovata</i>	37

Tabela 1. Resultados dos testes histoquímicos realizados em raízes epicorticais (RE) e no haustório secundário de <i>Phthirusa ovata</i> (Pohl ex DC.) Eichler.....	38
--	-----------

CAPÍTULO 2

Figura 1. Médias mensais das médias diárias dos dados climáticos da Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE) em 2011.....	59
Figura 2. Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), com área do estudo representada por retângulo.....	61
Figura 3. Regressão linear entre o potencial hídrico foliar mínimo ($\Psi_{f_{\min}}$) da hemiparasita <i>P. ovata</i> e de suas hospedeiras, para a estação seca (círculos fechados) e estação chuvosa (círculos abertos e linha contínua) ($R^2 = 0,719$; $\Psi_{f_{\min}} P. ovata = -0,300 + (0,994 * \Psi_{f_{\min}} \text{ hospedeiras})$)	66
Figura 4. Concentrações foliares de macronutrientes nas hospedeiras <i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i> parasitadas por <i>P. ovata</i>	67
Figura 5. Concentrações foliares de nutrientes de <i>P. ovata</i> nas hospedeiras <i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i>	68

Figura 6. Regressões lineares entre a concentração de nutrientes foliares de <i>P. ovata</i> e suas hospedeiras nas estações chuvosa (círculos fechados e linha contínua) e seca (círculos abertos e linha tracejada)	69
Figura 7. Concentrações foliares de nutrientes de <i>P. ovata</i> , independente da hospedeira, nas estações chuvosa e seca.....	70
Figura 8. Concentrações foliares de nutrientes em <i>D. miscolobium</i> , independente do parasitismo, nas estações chuvosa e seca	71
Figura 9. Concentrações foliares de macronutrientes em <i>B. verbascifolia</i> nas estações chuvosa e seca	72
Figura 10. Teor de pigmentos fotossintéticos de <i>P. ovata</i>	72
Figura 11. Regressão linear entre as concentrações de pigmentos fotossintéticos e N foliar em <i>P. ovata</i> , para a estação seca (círculos fechados e linha contínua) e para a estação chuvosa (círculos abertos e linha tracejada).	74
Figura 12. Pigmentos fotossintéticos de <i>D. miscolobium</i> , com e sem <i>P. ovata</i> , nas estações chuvosa e seca.	75
Figura 13. Pigmentos fotossintéticos de <i>B. verbascifolia</i>	75
Figura 14. Curvas diárias de trocas gasosas de <i>P. ovata</i> em diferentes hospedeiras realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita).	78
Figura 15. Regressão linear entre condutância estomática e assimilação de CO ₂ de <i>P. ovata</i> na medida de 08h da estação chuvosa ($R^2 = 0,83$; $p < 0,05$; $ACO_2 = 4,041 + (6,002 * g_s)$).	79
Figura 16. Curvas diárias de trocas gasosas de <i>D. miscolobium</i> não-parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita).	80
Figura 17. Curvas diárias de uso da água de <i>D. miscolobium</i> não-parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita)..	81
Figura 18. Curvas diárias de trocas gasosas de <i>B. verbascifolia</i> não parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita).	82
Figura 19. Medidas de fluorescência de <i>P. ovata</i> nas hospedeiras <i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i> na estação seca.....	83
Figura 20. Medidas de fluorescência em indivíduos de <i>D. miscolobium</i> parasitados e não-parasitados na estação seca.....	84
Figura 21. Medidas de fluorescência em indivíduos de <i>B. verbascifolia</i> parasitados e não-parasitados na estação seca.....	85

Tabela 1. Potencial hídrico mínimo (MPa) de <i>P. ovata</i> nas distintas hospedeiras (<i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i>) e estações (seca e chuvosa), e de indivíduos de <i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i> parasitados e não-parasitados e nas distintas estações..	66
Tabela 2. Interações significativas nas concentrações de nutrientes foliares de <i>B. verbascifolia</i> nas estações (chuvosa e seca) e quanto ao parasitismo (não-parasitada e parasitada).....	71
Tabela 3. Interações nos pigmentos fotossintéticos (mg.cm ⁻²) da hemiparasita <i>P. ovata</i> , entre os fatores hospedeira (<i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i>) e estação (seca e chuvosa).....	73
Tabela 4. Interações significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos foliares da hospedeira <i>B. verbascifolia</i> entre o efeito do parasitismo e das estações.....	76

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Resultados das ANOVA's de potencial hídrico foliar (Ψ_f) das espécies estudadas.	103
ANEXO 2. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares entre indivíduos parasitados das hospedeiras <i>D. miscolobium</i> e <i>B. verbascifolia</i>	104
ANEXO 3. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de <i>P. ovata</i>	105
ANEXO 4. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de <i>D. miscolobium</i>	106
ANEXO 5. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de <i>B. verbascifolia</i>	107
ANEXO 6. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de <i>P. ovata</i>	108
ANEXO 7. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de <i>D. miscolobium</i>	108
ANEXO 8. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de <i>B. verbascifolia</i>	109
ANEXO 9. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de <i>P. ovata</i> nas estações chuvosa e seca.	110
ANEXO 10. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de <i>D. miscolobium</i> na estação seca.	111
ANEXO 11. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de <i>B. verbascifolia</i> na estação chuvosa.....	112
ANEXO 12. Resultados das ANOVA's para os valores diários de fluorescência de clorofila <i>a</i> das espécies estudadas na estação seca	113

RESUMO

Hemiparasitas aéreas estabelecem conexões vasculares com suas plantas hospedeiras por meio do haustório para obter água e nutrientes minerais. Entre os nutrientes, nitrogênio (N) foi sugerido o mais limitante para o desenvolvimento dessas plantas. Os objetivos desse estudo foram (1) analisar estruturalmente a conexão do haustório secundário da hemiparasita *Phthirusa ovata* em ramos da hospedeira, (2) verificar as respostas fisiológicas da hemiparasita crescendo em uma hospedeira fixadora de N e outra não-fixadora e (3) as implicações do parasitismo nas respostas fisiológicas das duas hospedeiras. Para o estudo anatômico, foram coletadas raízes epicorticais e haustórios secundários de *P. ovata* crescendo em galhos de *Dalbergia miscolobium*. O estudo das respostas fisiológicas foi realizado na Reserva Ecológica do IBGE, em Brasília-DF, onde foram selecionados indivíduos de *P. ovata* na hospedeira fixadora de N, *D. miscolobium*, e não-fixadora, *Byrsonima verbascifolia*, e indivíduos parasitados e não-parasitados dessas hospedeiras. Foram medidos diversos parâmetros fisiológicos e a concentração foliar de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Zn, Fe, Mn, Cu e B). Nas secções anatômicas, observou-se que a penetração do haustório ocorreu pelas lenticelas da casca da hospedeira. Sugere-se que lenticelas e fissuras na casca da hospedeira facilitarão a penetração. Estruturalmente, se destacam grupos de braquiesclereídes com cristais prismáticos (sendo que os periféricos são células cristarques) e ocasionalmente, cristais no tecido parenquimático que podem ser caracteres distintivos da espécie. Na interface parasita-hospedeira, há células parenquimáticas comuns e células sugadoras de *P. ovata* em contato com o xilema secundário da hospedeira. Nessa região parasitada, houve a formação de tilos nos elementos de vaso e acúmulo de compostos fenólicos nas células do parênquima que são mecanismos de defesa da hospedeira a esta infestação parasítica. Dessa maneira, esse estudo mostrou que a conexão estabelecida por *P. ovata* não é xilema-xilema, mas envolve células parenquimáticas na interface. Quanto às respostas fisiológicas, *P. ovata* apresentou maior conteúdo de N foliar, clorofila *a*, clorofila total, carotenóides, maior taxa fotossintética e condutância estomática na hospedeira fixadora de N, indicando respostas positivas dessa hemiparasita a maior disponibilidade de N. O parasitismo de *P. ovata* afetou a eficiência intrínseca do uso da água e taxa de assimilação de CO₂ da hospedeira *D. miscolobium* na estação seca, sem efeitos aparentes na estação chuvosa. Por outro lado, a presença da hemiparasita levou a uma redução no conteúdo de potássio

foliar, razão clorofila total/ carotenóides, taxa de assimilação de CO₂ e condutância estomática de *B. verbascifolia* na estação chuvosa e do quenching não-fotoquímico relacionado à fotoproteção (Φ_{NPQ}) na estação seca. Esses resultados indicam que as hospedeiras foram diferentemente afetadas pela presença da hemiparasita, tendo maiores implicações em *B. verbascifolia*.

Palavras-chave: plantas parasitas, penetração do haustório, interface parasita-hospedeira, nitrogênio, uso da água, trocas gasosas, medidas de fluorescência.

ABSTRACT

Mistletoes establish vascular connections with their host plants through the haustorium to acquire water and mineral nutrients. Nitrogen (N) has been suggested as the most limiting nutrient to the development of those hemiparasites. The objectives of this study were (1) to analyze structurally the connection that is established between the secondary haustorium of the mistletoe *Phthirusa ovata* and branches of the host plant; (2) check the mistletoe's physiological responses on a N-fixing and a non-fixing host and (3) the implications of the parasitism in the physiological responses of those two hosts. For the anatomical study epicortical roots and secondary haustoria of *P. ovata* were collected from plants attached to *Dalbergia miscolobium*'s branches. The study of physiological responses was conducted at the IBGE Ecological Reserve, Brasilia-DF. *P. ovata* individuals on N-fixing (*D. miscolobium*), and non-fixing (*Byrsonima verbascifolia*) hosts, and parasitized and non-parasitized individuals of these hosts were sampled. Various physiological parameters were measured and leaf concentrations of macro (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrients (Zn, Fe, Mn, Cu and B) were determined. In anatomical sections, it was observed that the haustorium penetrated the host through the bark lenticels. It is suggested that lenticels and fissures in the host bark would therefore facilitate penetration. Structurally, groups of brachysclereids with prismatic crystals stand up (peripheral ones are cristarque cells) and occasionally crystals were found in the haustorium parenchyma; they may be distinctive characters for this species. In the host-parasite interface, parenchymatic cells and sucker cells of *P. ovata* were in contact with the host's secondary xylem. In this parasitized region, there were formation of tylose in the vessel elements and accumulation of phenolic compounds in the parenchyma cells, which could be considered as host defense mechanisms against this parasitic infestation. Thus, this study showed that *P. ovata* does not establish a direct xylem-xylem connection with the host plant. An interface of parenchymatic cells of *P. ovata* is formed between the xylem of the hemiparasite and the xylem of the host. Regarding the physiological responses, *P. ovata* showed higher leaf concentrations of nitrogen, chlorophyll *a*, total chlorophyll, carotenoids, higher photosynthetic rate and stomatal conductance in the N-fixing host, indicating positive responses of this mistletoe to increased N availability. The parasitism by *P. ovata* negatively affected intrinsic water-use efficiency and CO₂ assimilation rates of *D. miscolobium* host in the dry season, without apparent effects in wet season. In contrast, the mistletoe's presence

led to a reduction in leaf concentrations of potassium, total chlorophyll / carotenoid ratios, CO₂ assimilation rates and stomatal conductance of *B. verbascifolia* in the wet season and in non-photochemical quenching related to photoprotection (Φ_{NPQ}) in the dry season. These results indicate that hosts were differently affected by the mistletoe presence, with major implications to *B. verbascifolia*.

Keywords: parasitic plant, penetration of haustorium, host-parasite interface, nitrogen, water use, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence.

I. INTRODUÇÃO GERAL

O hábito parasítico evoluiu várias vezes entre plantas na radiação das angiospermas (Nickrent e Musselman, 2004). Entre as angiospermas heterotróficas, plantas ditas parasitas são aquelas que obtêm recursos diretamente de suas hospedeiras (Nickrent, 2002; Nickrent e Musselman, 2004). Existem aproximadamente 4100 espécies de plantas parasitas espalhadas em 19 famílias (Nickrent e Musselman, 2004). Esse grupo de plantas abrange ampla variedade de morfologias, estratégias de vida e formas de crescimento e podem ser encontradas em todo o mundo, habitando desde florestas tropicais úmidas a tundras subárticas (Bell e Adams, 2011). Para crescerem, essas plantas absorvem solutos de suas hospedeiras. Para isso mantêm um íntimo contato com o sistema vascular da hospedeira estabelecendo conexões célula-célula e adquirindo os recursos pela corrente transpiratória (Calvin e Wilson, 1995; Glatzel e Geils, 2009). Plantas parasitas possuem um órgão especializado que penetra nos tecidos da planta hospedeira e se liga no tecido vascular dessa planta de onde extrai água, nutrientes e/ou compostos fotoassimilados (Kuijt, 1969), chamado de haustório (do latim, *haurire*, beber) (Hibberd e Jeschke, 2001). Esse órgão absorptivo é homólogo às raízes (Rizzini, 1951) e considerado característica definidora das plantas parasitas (Kuijt, 1969; Nickrent *et al.*, 1998). Há uma variedade de formas e de conexões celulares para esse órgão (Rizzini, 1951; Calvin e Wilson, 2006). Essas diversas características morfológicas do haustório têm sido agrupadas e revelado implicações filogenéticas que ajudam a compreender a história evolutiva do grupo (Vidal-Russel e Nickrent, 2008; Yoder *et al.*, 2009).

Um dos aspectos mais relevantes da anatomia do haustório é a interface de contato parasita-hospedeira, já que estabelece a ponte física e fisiológica entre as duas plantas (Kuijt, 1969). O estudo dos tipos celulares constituintes da interface é importante na compreensão das vias de transporte (apoplástica e/ou simplástica) dos recursos transferidos da hospedeira à parasita (Calvin e Wilson, 1995; Hibberd e Jeschke, 2001; Pate, 2001). Além disso, ajuda a elucidar a dependência e requerimento nutricional dessas plantas (Stewart e Press, 1990; Hibberd e Jeschke, 2001).

Angiospermas parasitas variam em termos de grau de dependência dos recursos das suas hospedeiras para crescerem (Nickrent *et al.*, 1998), que é uma forma de

distingui-las, embora haja algumas espécies intermediárias (Bell e Adams, 2011). Plantas parasitas que podem atingir a maturidade sem uma hospedeira são ditas parasitas facultativas; entre aquelas que dependem da hospedeira para completar seu ciclo de vida, há aquelas que são clorofiladas (fotossintetizantes) que apenas dependem de suas hospedeiras para adquirir água e nutrientes minerais, chamadas hemiparasitas; e há plantas aclorofiladas (não-fotossintetizantes) que precisam de carboidratos, água e nutrientes da hospedeira, denominadas holoparasitas (Nickrent, 2002). A maioria das plantas parasitas é hemiparasita (Yoder *et al.*, 2009). Em geral, hemiparasitas se conectam ao xilema da planta hospedeira enquanto holoparasitas são parasitas do floema (Kuijt, 1969; Yoder *et al.*, 2009).

Quanto ao órgão parasitado, aproximadamente 60% das plantas parasitas são terrestres e com haustórios especializados para parasitar raízes de outras plantas (parasitas de raiz –60%) e cerca de 40% possuem o sistema haustorial adaptado ao parasitismo da parte aérea. Existe apenas a exceção de um gênero que parasita os dois órgãos (Mathiasen *et al.*, 2008; Bell e Adams, 2011). No parasitismo do sistema aéreo há um grupo de plantas que, na sua maioria, são hemiparasitas, sendo chamadas de hemiparasitas aéreas (Arruda *et al.*, 2012). O hemiparasitismo do sistema aéreo compõe um grande grupo com aproximadamente 1.300 espécies (Glatzel e Geils, 2009). Esse modo de parasitismo surgiu múltiplas vezes na evolução das Santalales (Vidal-Russel e Nickrent, 2008; Nickrent *et al.*, 2010). Hemiparasitas aéreas são encontradas em 5 famílias dessa ordem: Amphorogynaceae, Loranthaceae, Misodendraceae, Santalaceae e Viscaceae (Nickrent *et al.*, 2010). No Brasil, há espécies de hemiparasitas aéreas nas famílias Loranthaceae, Santalaceae e Viscaceae que compreendem 203 espécies da flora brasileira (Arruda *et al.*, 2012).

De maneira geral, a maioria das hemiparasitas aéreas é generalista e crescem em um grande número de espécies de plantas vasculares (Mathiasen *et al.*, 2008; Arruda *et al.*, 2012; Kavanagh e Burns, 2012), comumente reduzindo o desempenho de tais hospedeiras (Orozco *et al.*, 1990; Yoder *et al.*, 2009). A fim de obter água e nutrientes, as hemiparasitas aéreas apresentam taxas transpiratórias maiores que de suas hospedeiras, mantendo um gradiente no potencial hídrico foliar que facilita o fluxo de recursos da hospedeira para a parasita (Ehleringer *et al.*, 1986; Orozco *et al.*, 1990).

Assim, a competição por esses recursos é a mais clara explicação para os efeitos deletérios causados pelo parasitismo em suas hospedeiras (Stewart e Press, 1990).

As respostas das hospedeiras à infecção por plantas parasitas são bastante variáveis e dependem principalmente das espécies parasita-hospedeira, grau de suscetibilidade (se há resistência à infestação) da hospedeira e grau de infestação parasítica (Stewart e Press, 1990). Entre os efeitos do parasitismo, esse pode prejudicar o balanço hídrico e de nutrientes da planta hospedeira, reduzir as taxas de fotossíntese (Ehleringer *et al.*, 1986; Orozco *et al.*, 1990; Meinzer *et al.*, 2004) e por consequência, afetar o crescimento, alometria, reprodução e taxas de sobrevivência da hospedeira (Hosseini *et al.*, 2008; Mourão *et al.*, 2009; Cuevas-Reyes *et al.*, 2011). Devido às restrições fisiológicas que hemiparasitas podem impor às suas hospedeiras, essas plantas reduzem a habilidade competitiva de suas hospedeiras e afetam a estrutura da comunidade, dinâmica populacional e até mesmo de processos em nível de ecossistema (Press e Phoenix, 2005). Contudo, esses efeitos podem ser facilitadores, já que envolvem a interação com outras plantas, além da hospedeira, e de outros organismos e por isso hemiparasitas aéreas têm sido consideradas recurso-chave onde ocorrem (Press e Phoenix, 2005; Watson, 2009). Entre os motivos para tal afirmação, destaca-se, a relação mutualística entre essas plantas e as aves que dispersam suas sementes (Aukema, 2003), fonte de alimento também para os insetos e aves que as polinizam (Mathiasen *et al.*, 2008), local de nidificação de aves (Cooney e Watson, 2008) e seu efeito acelerador na decomposição da serrapilheira das espécies coocorrentes (Spasojevic e Suding, 2011).

Dada a relação com as aves (polinização e dispersão), hemiparasitas aéreas da ordem Santalales são conhecidas no Brasil como “ervas-de-passarinho” (Barbosa, 2000; Cazetta e Galetti, 2007) e em países do hemisfério norte como “*mistletoes*” que em anglo-saxão significa esterco no galho (Calder, 1983 *apud* Aukema, 2003). Esse termo destaca a importância da hospedeira para o estabelecimento da hemiparasita e das aves dispersoras que, por meio da defecação, regurgitação ou processo de limpeza do bico, liberam as sementes das ervas-de-passarinho em galhos da planta hospedeira, que são locais propícios à germinação (Aukema, 2003). Esse é um evento crítico, pois a presença e a abundância das hemiparasitas aéreas podem ser influenciadas pelo comportamento dos dispersores (posição da copa visitada) e pelas características das

hospedeiras (Cazetta e Galetti, 2007), como disposição na copa, espessura (Cazetta e Galetti, 2007) e tipo de casca dos ramos (Arruda *et al.*, 2006).

Assim como o processo de estabelecimento da parasita é afetado pelas características da hospedeira, as respostas fisiológicas das plantas parasitas também podem ser influenciadas e estar relacionadas às características de suas hospedeiras. Segundo Press e Phoenix (2005) o desenvolvimento das hemiparasitas é dependente da “qualidade” da hospedeira, ou seja, dos recursos que podem ser adquiridos da hospedeira pela parasita. Hospedeiras com mecanismos de defesa pouco desenvolvidos ao parasitismo (Cameron e Seel, 2007) ou hospedeiras com alto conteúdo de nitrogênio (N), como leguminosas associadas a bactérias fixadoras de N, podem favorecer a sobrevivência ou aumentar a performance das parasitas (Radomiljac *et al.*, 1999; Pate, 2001; Bowie e Ward, 2004).

O N é adquirido pelas hemiparasitas dissolvido na seiva xilemática. Além das formas inorgânicas, as hemiparasitas também o adquirem passivamente em compostos orgânicos, em aminoácidos ou ureídeos (Pate, 2001). Fisiologicamente, a aquisição de compostos orgânicos pela hemiparasita satisfaz as necessidades nutricionais de N e também se traduz em ganho heterotrófico de carbono pelas hemiparasitas (Escher *et al.*, 2004; Tesitel *et al.*, 2011). Embora a capacidade de realizar fotossíntese e de assimilar parte do próprio carbono seja característica de plantas hemiparasitas, existe uma grande variação quanto à eficiência fotossintética entre essas plantas que, conseqüentemente, também se diferem quanto às necessidades por recursos das hospedeiras e grau de heterotrofia (Yoder *et al.*, 2009). Além de compostos nitrogenados, íons e ácidos orgânicos são adquiridos da seiva xilemática dos hospedeiros (Bell e Adams, 2011).

A nutrição de hemiparasitas desde o modo de conexão com a planta hospedeira até os tipos de compostos absorvidos pelo haustório têm recebido atenção em vários estudos (Radomiljac *et al.*, 1999; Pate, 2001; Escher *et al.*, 2004), pois influenciam o ganho heterotrófico de carbono e as respostas fisiológicas das hemiparasitas perante as condições impostas pelo ambiente. Essas respostas por sua vez implicam nos efeitos que o parasitismo pode gerar em suas hospedeiras.

A estreita relação fisiológica entre hemiparasitas e hospedeiras possibilita que sejam usadas como modelos para análises das conexões entre metabolismo de carbono e

as relações hídricas e nutricionais, já que as duas plantas compartilham recursos da mesma seiva, que é do xilema da planta hospedeira. Mesmo que cada espécie desta relação tenha mecanismos próprios de regulação das taxas de transpiração e assimilação de carbono, cada resposta individual vai afetar o funcionamento do sistema como um todo (Glatzel, 1983).

No Cerrado, investigações acerca de algumas relações entre hemiparasitas e suas hospedeiras já foram relatadas (Monteiro *et al.*, 1992; Lüttge *et al.*, 1998; Caires *et al.*, 2003; Arruda *et al.*, 2006; Mourão *et al.*, 2009; Scalon, 2010), sendo esse ambiente o melhor estudado no Brasil (Arruda *et al.*, 2012). Contudo, ainda há muito para ser investigado, tanto estruturalmente quanto fisiologicamente, visto a diversidade de hemiparasitas neste ambiente (Barbosa, 2000) e as variações que essas plantas podem ter devido aos diferentes perfis nutricionais de suas hospedeiras, além de variações ao longo do ano (Bell e Adams, 2011), imposto pela sazonalidade climática que caracteriza o cerrado.

II. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é analisar estruturalmente a associação da hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler quanto à conexão do haustório secundário desde a penetração até um estágio avançado de formação da interface de contato; as respostas fisiológicas dessa hemiparasita crescendo em hospedeira fixadora e não-fixadora de N e ainda, o efeito do parasitismo de *P. ovata* nas respostas fisiológicas dessas hospedeiras.

III. ESPÉCIES ESTUDADAS

Phthirusa ovata é uma espécie de hemiparasita aérea que ocorre nos domínios fitogeográficos Amazônia, Caatinga e Cerrado, englobando as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil (Caires e Dettke, 2011). No Cerrado, a espécie é de comum ocorrência e alguns trabalhos envolvendo essa espécie já foram realizados (Lüttge *et al.*, 1998; Caires *et al.*, 2003; Scalon, 2010). *P. ovata* se conecta aos galhos

das plantas hospedeiras por meio do haustório primário, resultado direto do meristema apical radicular, e também por raízes epicorticais, que crescem contíguas ao galho da hospedeira e a intervalos emitem haustórios secundários (fig. 1). Observações em campo levam a crer que essa espécie seja sempre-verde.

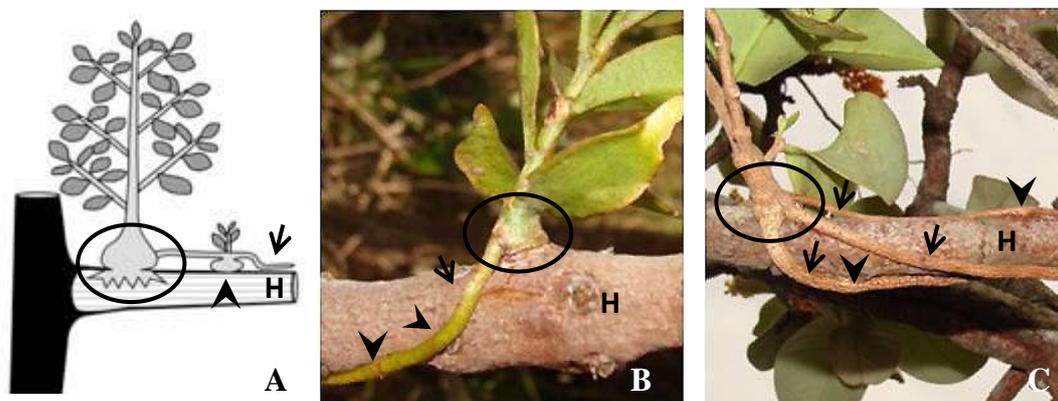


Figura 1. Haustório primário e secundário de *P. ovata*. **A.** Figura esquemática do tipo de haustório com raízes epicorticais como encontrado em *P. ovata* (Vidal-Russel e Nickrent, 2008). **B.** *P. ovata* jovem em que se evidencia haustório primário, primeira raiz epicortical e haustórios secundários emitidos por essa. **C.** *P. ovata* em estágio de desenvolvimento mais avançado em que 3 raízes epicorticais foram lançadas a partir do haustório primário. Notam-se haustórios secundários. H: hospedeira; cabeça de seta: haustório secundário; círculo: haustório primário; seta: raiz epicortical.

O gênero *Phthirusa* Mart. foi revisado recentemente por Kuijt (2011) que indicou o ressurgimento do gênero *Passovia* H. Karst, o que implica que espécies de *Phthirusa* passam a pertencer a *Passovia*. Assim, perante nova combinação *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler é sinônimo homônimo de *Passovia ovata* (Pohl ex DC.) Tiegh.. Como essa combinação ainda é considerada “não resolvida” nos bancos de dados internacionais (“Missouri Botanical Garden” e “The plant list”) e o gênero *Passovia* ainda está em revisão (Arruda *et al.*, 2012), manteve-se nesse trabalho a nomenclatura *Phthirusa ovata*.

P. ovata pertence à Loranthaceae, família que abrange o maior número de gêneros e espécies de hemiparasitas aéreas. No Brasil, a família está representada por 12 gêneros e 131 espécies (Arruda *et al.*, 2012). *Phthirusa* (atual *Passovia*) junto a *Psittacanthus* Mart. e *Struthanthus* Mart. são os gêneros mais diversificados na flora brasileira quando comparado àqueles de outros países da América do Sul (Caires *et al.*, 2009; Arruda *et al.*, 2012). Os gêneros dessa família são reconhecidamente generalistas

e a diversificação de hospedeiras é muito comum (Nickrent, 2002; Glatzel e Geils, 2009), no entanto podem mostrar preferência por algumas espécies hospedeiras (Press e Phoenix, 2005; Arruda *et al.*, 2012). Segundo Caires *et al.* (2003), *P. ovata* também é considerada generalista, embora mostre preferência por espécies de Leguminosae, assim como a espécie de Loranthaceae *Psittacanthus plagiophyllus* Eichler (Caires *et al.*, 2009) e o gênero *Phoradendron* Nutt.– Viscaee (Caires e Proença, 2005).

Leguminosae é a família mais rica em espécies do Cerrado (Mendonça *et al.*, 1998), o que pode ser o motivo para a grande ocorrência de hemiparasitas em leguminosas já que a infestação de hemiparasitas pode ocorrer em função da abundância das espécies no ambiente (Mourão *et al.*, 2009). Além disso, leguminosas podem ter maior quantidade de N em relação às demais espécies no mesmo ambiente, pois muitas vezes estabelecem associação simbiótica com bactérias fixadoras de N atmosférico em condições de baixa disponibilidade de N. Dentre algumas espécies de Cerrado estudadas por Carvalho *et al.* (2007), as leguminosas foram as que apresentaram maiores concentrações de N foliar, tanto em espécies sempre-verdes como decíduas. Essa alta disponibilidade de N em leguminosas pode influenciar a preferência ou aptidão de hemiparasitas (Press e Phoenix, 2005).

Entre as leguminosas do Cerrado, a espécie *Dalbergia miscolobium* Benth. (Papilionoideae) é conhecidamente fixadora de N (Cordeiro, 2000) e apresentou elevados valores de N foliar em condições naturais (Franco *et al.*, 2005; Araújo, 2006). Morfologicamente *D. miscolobium* é uma árvore com ritidoma de cor cinza ou castanha, com fissuras e cristas mais ou menos contínuas que se despregam; suas folhas são alternas compostas imparipinadas com folíolos coriáceos (Silva-Júnior, 2005). Quanto à fenologia caracteriza-se como brevidecídua. A queda das folhas nessa espécie ocorre no final da seca sazonal, assim como a maioria das espécies com estratégia fenológica decídua e brevidecídua do Cerrado (Oliveira, 1998; Pirani *et al.*, 2009).

D. miscolobium ocorre no cerrado sentido restrito e cerradão distrófico (Silva-Júnior, 2005). Análises de campo mostram que essa planta é comumente parasitada por *P. ovata*. Outra espécie que também tem sido encontrada sob o parasitismo de *P. ovata* no cerrado sentido restrito é *Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. ex Juss. pertencente à Malpighiaceae.

Malpighiaceae está também entre as famílias mais ricas em espécies do Cerrado (Mendonça *et al.*, 1998). O gênero *Byrsonima* Rich. ex Kunth. é o maior gênero desta família e agrupa espécies de importância medicinal e de frutos comestíveis. Nos cerrados ele está representado por 38 espécies (Mendonça *et al.*, 1998). Nesse ambiente são comuns espécies arbustivas e arbóreas deste gênero, principalmente *B. coccolobifolia* Kunth, *B. verbascifolia* e *B. intermedia* A. Juss. (Souza e Lorenzi, 2008). *Byrsonima verbascifolia* ocorre nos cerrados e também em formações campestres (Silva-Júnior, 2005; Araújo, 2009). Caracteriza-se como árvore e pode atingir até 5 metros de altura. *B. verbascifolia* possui casca com fissuras descontínuas e sinuosas que formam placas irregulares (Silva-Júnior, 2005). A espécie possui folhas simples, ovais e grandes, chegando a medir 11 cm de largura e 15 cm de comprimento e são pilosas em ambas as faces (Silva-Júnior, 2005). Ela é decídua com as novas folhas sendo lançadas no início da estação chuvosa (Araújo, 2009).

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- Araújo JF de. 2006.** *Padrões nutricionais de espécies lenhosas do Cerrado*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Araújo RR de. 2009.** *Fenologia e morfologia de plantas e biometria de frutos e sementes de muricizeiro (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich.) do tabuleiro costeiro de Alagoas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil.
- Arruda R, Carvalho LN, Del-Claro K. 2006.** Host specificity of a Brazilian mistletoe, *Struthanthus* aff. *polyanthus* (Loranthaceae), in Cerrado tropical savanna. *Flora* **201**: 127–134.
- Arruda R, Fadini RF, Carvalho LN, Del-Claro K, Mourão FA, Jacobi CM, Teodoro GS, Berg Evd, Caires CS, Dettke GA. 2012.** Ecology of Neotropical mistletoes: an important canopy-dwelling component of Brazilian ecosystems. *Acta Botanica Brasilica* **26**: 264-274.
- Aukema JE. 2003.** Vectors, viscin, and Viscaceae: mistletoe as parasites, mutualists, and resources. *Frontiers in Ecology Environment* **1**: 212–219.

¹ As referências foram citadas ao longo do texto introdutório e apresentadas nessa seção seguindo normas da revista *Annals of Botany*.

- Barbosa MA. 2000.** *Loranthaceae and Viscaceae no bioma Cerrado*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Bell TL, Adams MA. 2011.** Attack on all fronts: functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. *Tree Physiology* **31**: 3–15.
- Bowie M, Ward D. 2004.** Water and nutrient status of the mistletoe *Plicosepalus acaciae* parasitic on isolated Negev Desert populations of *Acacia raddiana* differing in level of mortality. *Journal of Arid Environments* **56**: 487–508.
- Caires CS, Dettke GA. 2011.** Loranthaceae. *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB030259> em 18 mai 2005.
- Caires CS, Proença CEB. 2005.** *Viscaceae*. In: Cavalcanti TB, Ramos AE, eds. *Flora do Distrito Federal, Brasil*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 41–76.
- Caires CS, Souza RG de, Zanatta GV, Gomes BM. 2003.** *Levantamento preliminar dos hospedeiros de Phthirusa ovata (Pohl) Eichl. (Loranthaceae) na arborização urbana de Brasília-DF*. Belém: 54º Congresso Nacional de Botânica, Brasil.
- Caires CS, Uchôa-Fernandes MA, Nicácio J, Strikis PC. 2009.** 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**: 272–277.
- Calvin CL, Wilson CA. 1995.** Relationship of the mistletoe *Phoradendron macrophyllum* (Viscaceae) to the wood of its host. *IAWA Journal* **16**: 33–45.
- Calvin CL, Wilson CA. 2006.** 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.
- Cameron DD, Seel WE. 2007.** Functional anatomy of haustoria formed by *Rhinanthus minor*: linking evidence from histology and isotope tracing. *New Phytologist* **174**: 412–419.
- Carvalho APF, Bustamante MMC, Kozovits AR, Asner GP. 2007.** Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de Cerrado com diferentes estratégias fenológicas. *Revista brasileira de Botânica* **30**: 19–27.
- Cazetta E, Galetti M. 2007.** Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-de-passarinho *Phoradendron rubrum* (L.) Griseb. (Viscaceae). *Revista brasileira de Botânica* **30**: 345–351.

- Cooney SJN, Watson DM. 2008.** An experimental approach to understanding the use of mistletoe as a nest substrate for birds: nest predation. *Wildlife Research* **35**: 65–71.
- Cordeiro L. 2000.** Fixação de nitrogênio em leguminosas ocorrentes no Cerrado. In: Klein AL, org. *Eugen Warming e o Cerrado brasileiro: um século depois*. São Paulo: Editora da UNESP, 131–147.
- Cuevas-Reyes P, Fernandes GW, González-Rodríguez A, Pimenta M. 2011.** Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of rupestrian host plants. *Basic and Applied Ecology* **12**: 449–455.
- Ehleringer JR, Cook CS, Tieszen LL. 1986.** Comparative water use and nitrogen relationships in a mistletoe and its host. *Oecologia* (Berlin) **68**: 279–284.
- Escher P, Eiblmeier M, Hetzger I, Rennenberg H. 2004.** Spatial and seasonal variation in amino compounds in the xylem sap of a mistletoe (*Viscum album*) and its hosts (*Populus* spp. and *Abies alba*). *Tree Physiology* **24**: 639–650.
- Franco AC, Bustamante M, Caldas LS, Goldstein G, Meinzer FC, Kozovits AR, Rundel P, Coradin VTR. 2005.** Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees* **19**: 326–335.
- Glatzel G, Geils BW. 2009.** Mistletoe ecophysiology: host-parasite interactions. *NRC Research Press Botany* **87**: 10–15.
- Glatzel G. 1983.** Mineral nutrition and water relations of hemiparasitic mistletoes: a question of partitioning. Experiments with *Loranthus europaeus* on *Quercus petraea* and *Quercus robur*. *Oecologia* (Berlin) **56**: 193–201.
- Hibberd JM, Jeschke WD. 2001.** Solute flux into parasitic plants. *Journal of Experimental Botany* **52**: 2043–2049.
- Hosseini SM, Kartoolinejad D, Mirnia SK, Tabibzadeh Z, Akbarinia M, Shayanmehr F. 2008.** The European mistletoe effects on leaves and nutritional elements of two host species in Hyrcanian Forests. *Silva Lusitana* **16**: 229–237.
- Kavanagh PH, Burns KC. 2012.** Mistletoe macroecology: spatial patterns in species diversity and host use across Australia. *Biological Journal of the Linnean Society* **106**: 459–468.
- Kuijt J. 1969.** The haustorium. In: *The Biology of Parasitic Flowering Plants*. Berkeley: University of California Press, 158–190.

- Kuijt J. 2011.** Pulling the skeleton out of the closet: resurrection of *Phthirusa sensu* Martius and consequent revival of *Passovia* (Loranthaceae). *Plant Diversity and Evolution* **129**: 159–211.
- Lüttge U, Haridasan M, Fernandes GW, Mattos EA, Trimborn P, Franco AC, Caldas LS, Ziegler H. 1998.** Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in Tropical Brazil. *Trees* **12**: 167–74.
- Mathiasen RL, Nickrent DL, Shaw DC, Watson DM. 2008.** Mistletoes: Pathology, Systematics, Ecology, and Management. *Plant Disease* **92**: 988–1006.
- Meinzer FC, Woodruff DR, Shaw DC. 2004.** Integrated responses of hydraulic architecture, water and carbon relations of western hemlock to dwarf mistletoe infection *Plant, Cell and Environment* **27**: 937–946.
- Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira PE. 1998.** Flora vascular do Cerrado. In: Sano SM, Almeida SP, eds. *Cerrado, Ambiente e flora*. Planaltina. EMBRAPA CPAC, 289–556.
- Monteiro RF, Martins RP, Yamamoto K. 1992.** Host specificity and seed dispersal of *Psittacanthus robustus* (Loranthaceae) in Southeast Brazil. *Journal of Tropical Ecology* **8**: 307–314.
- Mourão FA, Jacobi CM, Figueira JEC, Batista EKL. 2009.** Effects of the parasitism of *Struthanthus flexicaulis* (Mart.) Mart. (Loranthaceae) on the fitness of *Mimosa calodendron* Mart. (Fabaceae), an endemic shrub from rupestrian fields over ironstone outcrops, Minas Gerais State, Brazil. *Acta botanica brasiliica* **23**: 820–825.
- Nickrent DL, Duff RJ, Colwell AE, Wolfe AD, Young ND, Steiner KE, Pamphilis CW. 1998.** Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. In: Soltis D, Soltis P, Doyle J, eds. *Molecular Systematics of Plants II. DNA Sequencing*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 211–241.
- Nickrent DL, Malécot V, Vidal-Russell R, Der JP. 2010.** A revised classification of Santalales. *Taxon* **59**: 538–558.
- Nickrent DL, Musselman LJ. 2004.** Introduction to parasitic flowering plants. Plant Health Instructor. doi:10.1094/PHI-I-2004-0330-01.
- Nickrent DL. 2002.** Parasitic Plants of the World. In: Lopez-Saez JA, Catalan P, Saez L, eds. *Parasitic Plants of the Iberian Peninsula and Balearic Islands*. Madrid: Mundi-Prensa Libros S.A., 7–27.
- Oliveira PE. 1998.** Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. In: Sano SM, Almeida SP, eds. *Cerrado ambiente e flora*. Planaltina: Embrapa/CPAC, 169–192.

- Orozco A, Rada F, Azocar A, Goldstein G. 1990.** How does a mistletoe affect the water, nitrogen and carbon balance of two mangrove ecosystem species? *Plant, Cell and Environment* **13**: 941–947.
- Pate JS. 2001.** Haustoria in action: case studies of nitrogen acquisition by woody xylem-tapping hemiparasites from their hosts. *Protoplasma* **215**: 204–217.
- Pirani FR, Sanchez M, Pedroni F. 2009.** Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. *Acta botanica brasílica* **23**: 1096–1110.
- Press MC, Phoenix GK. 2005.** Impact of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist* **166**: 737–751.
- Radomiljac AM, McComb JA, Pate JS. 1999.** Gas exchange and water relations of the root hemi-parasite *Santalum album* L. in association with legume and non-legume hosts. *Annals of Botany* **83**: 215–224.
- Rizzini CT. 1951.** O parasitismo de “Loranthaceae” sobre monocotiledôneos. *Revista Brasileira de Biologia* **11**: 289–302.
- Scalon MC. 2010.** *Plantas hemiparasitas do Cerrado e sua relação com hospedeiras acumuladoras e não-acumuladoras de Alumínio*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Silva Junior MC. 2005.** *100 árvores do Cerrado*. Brasília: Rede de sementes do Cerrado.
- Souza VC, Lorenzi H. 2008.** *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. 2nd edn. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Spasojevic MJ, Suding KN. 2011.** Contrasting effects of hemiparasites on ecosystem processes: can positive litter effects offset the negative effects of parasitism? *Oecologia* **165**: 193–200.
- Stewart GR, Press MC. 1990.** The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**: 127–151.
- Tesitel J, Leps J, Vráblová M, Cameron DD. 2011.** The role of heterotrophic carbon acquisition by the hemiparasitic plant *Rhinanthus alectorolophus* in seedling establishment in natural communities: a physiological perspective. *New Phytologist* **192**: 188–199.
- Vidal-Russel R, Nickrent DL. 2008.** The first mistletoes: Origins of aerial parasitism in Santalales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **47**: 523–537.

Watson DM. 2009. Parasitic plants as facilitators: more Dryad than Dracula? *Journal of Ecology* **97**: 1151–1159.

Yoder JI, Gunathilake PC, Jamison-McClung D. 2009. Hemiparasitic plants: exploiting their host's inherent nature to talk. In: Baluška F, ed. *Plant Environment Interactions: from sensory plant biology to active plant behavior*. Heidelberg: Springer-Verlag, 85–100.

CAPÍTULO 1

**Penetração, desenvolvimento e estrutura do
haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl ex
DC.) Eichler (Loranthaceae) em *Dalbergia
miscolobium* Benth. (Leguminosae)**

1. INTRODUÇÃO

O haustório é característica comum e definidora das plantas angiospermas que possuem o hábito parasita (Nickrent et al. 1998). Esse é o órgão responsável pela penetração direta nos tecidos da hospedeira (Toth e Kuijt 1976) e posterior condução de água e nutrientes para a parasita pela conexão célula-célula estabelecida entre as duas plantas (Hibberd e Jeschke 2001).

O órgão invasivo e absortivo das plantas parasitas tem sido estudado durante décadas (Kuijt 1971; Smith e Gledhill 1983; Yan 1993; Calvin e Wilson 1995; Pate 2001; Kuijt e Lye 2005b; Devkota e Glatzel 2007). Embora funcionalmente similar nas plantas parasitas, o haustório é altamente variável morfológicamente e anatomicamente (Rizzini 1951; Stewart e Press 1990; Devkota e Glatzel 2007). Segundo Thoday (1961), essas variações e também semelhanças podem ocorrer em espécies bem distantes ou na mesma espécie e podem ser motivadas pela idade do órgão e pelas espécies hospedeiras (Kuijt 1964a). Em hemiparasitas aéreas, devido à diversidade e possíveis implicações filogenéticas da morfologia do haustório, ainda há muito para se investigar (Mathiasen et al. 2008).

Loranthaceae abrange o maior número de hemiparasitas aéreas com cerca de 900 espécies distribuídas em 73 gêneros dos quais apenas 3 gêneros monotípicos são de hemiparasitas de raiz (Mathiasen et al. 2008). Nessa família são reconhecidos quatro tipos básicos de haustório para hemiparasitas aéreas: (1) raízes epicorticais (RE), que crescem juntamente à superfície do ramo da hospedeira e em intervalos estabelecem ligações haustoriais; (2) uniões *clasping*, onde o haustório da parasita cresce e envolve parcialmente o ramo da hospedeira; (3) rosas de palo, em que os tecidos da hospedeira proliferam em volta do haustório da parasita resultando em uma estrutura semelhante a uma placenta à qual o haustório da parasita está ligado; e (4) cordões corticais, que se espalham pelo interior do córtex da hospedeira e a intervalos emitem projeções que atingem o xilema da hospedeira (Calvin e Wilson 1998 *apud* Calvin e Wilson 2006).

As RE estão presentes em 56% dos gêneros aéreos de Loranthaceae (Calvin e Wilson 2006) e têm sido consideradas de grande importância ecológica (Devkota e Glatzel 2007). Plantas com RE formam conexões múltiplas e visíveis com suas hospedeiras diferente dos outros tipos que formam “uniões solitárias” com as

hospedeiras, pois aparentam ter apenas uma única ligação (Calvin e Wilson 2006). As conexões haustoriais das RE também são chamadas de haustórios secundários. Isso porque haustórios primários são aqueles advindos diretamente do meristema apical radicular e quase sempre são terminais em origem (Kuijt 1969) enquanto os haustórios secundários são geralmente órgãos laterais em espécies com RE (Kuijt 1965; Devkota e Glatzel 2007). Os vários haustórios secundários das plantas com RE aumentam o fluxo de nutrientes para a parasita (Kuijt 1969) e permitem a fixação com mais segurança na hospedeira (Kuijt 1964a; Kuijt 1969). Além disso, há reprodução vegetativa em hemiparasitas aéreas por meio das RE (Thoday 1961; Devkota e Glatzel 2007) e aumento da capacidade competitiva dessas plantas por luz, ao permitir uma posição na copa da hospedeira para captação de luz mais vantajosa do que no local de fixação primária (Kuijt 1969).

Embora distinto em origem, 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 à hospedeira e a que penetra e conecta-se ao tecido vascular da hospedeira (Kuijt 1977). Contudo, o estabelecimento desse contato com o xilema da hospedeira ainda não corresponde à composição estrutural madura do endófito e após esse contato, pode demorar alguns meses para que a diferencial tecidual resulte em um endófito desenvolvido (Venturelli 1980).

No haustório superior, sabe-se que características do galho hospedeiro podem afetar os processos de adesão e penetração na hospedeira em haustórios primários (Sargent 1995; Arruda et al. 2006) e que ocorrem modificações nas células da hemiparasita que estão em contato com a hospedeira, porém esses processos ainda não são conhecidos em detalhes. Quanto ao endófito, a interface parasita-hospedeira que é a base da ligação estrutural e fisiológica entre parasita e hospedeira (Calvin e Wilson 1995; Pate 2001) ainda não é totalmente conhecida em hemiparasitas aéreas, já que poucos gêneros foram estudados, especialmente de Loranthaceae. O estudo anatômico do endófito é fundamental para elucidar a diversidade estrutural mostrada na interface em diferentes combinações parasita-hospedeira para posterior uso dessas características com fim taxonômico (Thoday 1961; Fineran e Calvin 2000; Cameron et al. 2006), subsidiar o entendimento da translocação de nutrientes (Coetzee e Fineran 1987; Fineran e Calvin 2000; Hibberd e Jeschke 2001) e revelar os mecanismos de resistência

das plantas hospedeiras à infecção parasítica que afetam o sucesso da hemiparasita (Hood et al. 1998; Cameron et al. 2006; Amaral e Ceccantini 2011).

Dentro de Loranthaceae, o gênero *Phthirusa* Mart. possui haustório primário e secundários (Kuijt 1965; Calvin e Wilson 2006) e foi objeto de alguns estudos que focaram o haustório primário (Dobbins e Kuijt 1974a, b), embora sem contato com uma hospedeira; e o haustório secundário (Thoday 1961; Kuijt 1964a; Kuijt 1965), especialmente da espécie *Phthirusa pyrifolia* (Kunth) Eichler. Contudo, nesses trabalhos, a ausência de acompanhamento *in situ* de contato/aderência e penetração em hospedeiras, a falta de ilustrações das estruturas descritas ou a análise do haustório em órgão vegetal diferente dos galhos (como em folha da hospedeira por Kuijt 1965), tornou o conhecimento limitado da penetração, do desenvolvimento e da composição estrutural desse órgão absorptivo no gênero supracitado e ainda, restrito à *P. pyrifolia*.

Em vista da importância desse gênero no Brasil (Caires et al. 2009), parasita de diversas plantas hospedeiras e ampla distribuição no país, e do limitado conhecimento desse órgão fundamental para a nutrição e consequente sobrevivência dessas plantas, este estudo tem o objetivo de examinar o haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler sobre *Dalbergia miscolobium* Benth. quanto à penetração, desenvolvimento da estrutura do haustório secundário até um estágio avançado de diferenciação da interface de contato e mecanismos de resistência da hospedeira à infecção parasítica, incluindo ainda a estrutura caulinar da hospedeira e RE da parasita antes da formação do haustório.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

As coletas foram realizadas entre maio de 2011 e janeiro de 2012 no *Campus Darcy Ribeiro* da Universidade de Brasília (15° 46' 14" S e 47° 52' 04" W) – Asa Norte, Brasília-DF e na Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), uma estação experimental localizada a 35 km ao sul do centro de Brasília-DF (15° 56' 41" S e 47° 53' 07" W). Foram coletados haustórios secundários de RE jovens e maduros de *P. ovata* que se desenvolviam sobre ramos de

D. miscolobium, que também foram coletados. Haustórios foram designados jovens quando estavam em processo de penetração e/ou estágio de desenvolvimento do endófito pouco diferenciado e a RE apresentava ± 3 mm de diâmetro. Galhos de *D. miscolobium* inferiores a 5 mm apresentavam, em geral, frequentes lenticelas e até 1cm, fissuras na casca. Essas RE jovens e os galhos da hospedeira, adjacentes à região de contato foram descritos quanto à organização estrutural. Haustórios maduros, ou seja, desenvolvidos, apresentavam estágio avançado de diferenciação tecidual (especialmente na interface de contato), o que ocorreu em espessura variável de diâmetro. Para cada estágio de desenvolvimento foram amostrados pelo menos 4 indivíduos de *P. ovata*, sendo que esses apresentavam número variável de haustórios secundários.

Para microscopia óptica, o material foi fixado e preservado em solução aquosa de formalina 10% (Galigher e Kozloff 1964). Os haustórios jovens, maduros e caule da hospedeira e RE da parasita foram preparados em tamanhos menores para inclusão em polietilenoglicol (PEG) 4000 (Rupp 1964) e parafina (Johansen 1940) de acordo com técnicas usuais em laboratório de anatomia vegetal. A inclusão em historresina (Leica Historesin® Embedding Kit, Leica, Germany) foi usada apenas para RE da parasita e realizada segundo normas do fabricante. Para microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura, foram realizados cortes longitudinais no haustório, no caule da hospedeira e RE da parasita e transversal no caule de *D. miscolobium* e RE de *P. ovata*.

2.2. Secção do material em PEG 4000

O bloco de material vegetal incluído em PEG foi posicionado no micrótomo de deslize (Reichert-Jung Heidelberg modelo 26896) e sobre o bloco foi colocada fita adesiva transparente (Abelbras Ind. e Com. de adesivos Ltda – 4,8cm). A fita foi friccionada ao bloco até completa aderência. Ao passar a navalha, as secções vegetais, com espessura entre 14 e 20 μ m, permaneceram aderidas à fita adesiva. Esta foi lavada, sob agitação, com água aquecida até retirada total do PEG. O material vegetal aderido à fita foi submetido à coloração.

Foi utilizada em algumas lâminas dupla coloração, safranina:azul de alcian, 4:1, v:v; solução 1% aquosa diluída (Kraus e Arduim 1997) e em outras usou-se a tripla

coloração de Flemming, composta por safranina:violeta cristal:orange G, nas proporções 3:1:3 e 1:1:1 (v:v:v) (Johansen 1940, com modificações: adicionou-se 20 gotas de óleo de cravo na solução de orange G). Para o caule de *D. miscolobium* também foi usada safranina 1% aquosa. Em seguida, o material foi desidratado em série etanólica e diafanizado em soluções crescentes de etanol:xilol até xilol PA. As secções foram montadas entre lâmina e lamínula em resina sintética (Paiva et al. 2006).

2.3. Secção do material em Parafina

O material vegetal incluído em parafina foi seccionado com espessura entre 10 e 12 µm no micrótomato rotatório (American Optical Corp. modelo 820) com uso de fita adesiva transparente sobre o bloco como descrito anteriormente. Com as secções vegetais aderidas a fita, seguiu-se remoção da parafina com xilol, reidratação e dupla coloração em safranina:azul de alcian, 4:1, v:v; solução 1% aquosa (Kraus e Arduim 1997). Após a coloração, houve desidratação etanólica, diafanização em série etanol-xilólica e montagem entre lâmina e lamínula como descrito para PEG.

2.4. Secção do material em Historresina

O material incluído foi seccionado em micrótomato rotatório (Leica RM-4125) com espessura de 6–8µm. As secções foram distendidas em água destilada a 37-39 °C. Posteriormente, as secções foram submetidas a azul de toluidina 1% com bórax diluído (O'Brien et al. 1965) e secas em estufa a 40 °C. Para análise e fotodocumentação, colocou-se pequena quantidade de água sobre o material vegetal e sucedeu-se montagem entre lâmina e lamínula.

2.5. Testes histoquímicos

Para a histoquímica da RE e do haustório foram utilizados, nas fitas com as secções vegetais, o reagente lugol (cloreto iodado a 8%) para detecção de amido (Jensen 1962), dicromato de potássio 10% para detecção de compostos fenólicos (Gabe 1968),

sudan III e sudan IV para detecção de lipídios, em especial a cutina (Jensen 1962) e os ácidos acético glacial PA, clorídrico 10% e nítrico 10% para identificação da natureza dos cristais (Chamberlain 1932). Como branco dos testes, foram utilizados cortes sem qualquer tratamento.

2.6. Fotodocumentação

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 DM750, Leica Microsystems).

2.7. Preparação e análise do material em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O material foi fixado em meio Karnovsky 0,05M, lavado por 30 minutos (3 trocas de 10 minutos) em tampão Cacodilato de sódio-HCl 0,05M em pH 7,2 (Bozzola e Russel 1992) e desidratado em série acetônica crescente (50%, 70% e 90%, 30 minutos cada solução e 1 hora a 100%). O material em acetona 100% foi colocado em aparelho de ponto crítico (Balzers CPD 030). Após este processo, o material vegetal foi posto em *stub* metálico e submetido à metalização em ouro (“Sputter Coater”, Balzers SCD 050).

As análises e fotografias foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-7001F) a 11 ou a 15KV no laboratório de Microscopia Eletrônica e Virologia da UnB.

3. RESULTADOS

3.1. Descrição anatômica do caule de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Em secção transversal, o caule de *D. miscolobium* mostrou-se circular (fig. 1A) e em início de crescimento secundário (fig. 1) com a presença de felogênio (fig. 1C) e zona cambial (fig. 1D). Os seguintes tecidos/sistemas foram identificados da periferia para o centro: periderme com lenticelas (fig. 1A–1C), córtex, sistema condutor e medula parenquimática (fig. 1A). A periderme tem um número variável de camadas de felema com frequentes lenticelas (fig. 1A, 1B, 1C). O parênquima cortical apresenta idioblastos com conteúdo cristalífero (fig. 1D). Há calotas de floema primário com fibras, elementos de tubo crivado, células companheiras e parênquima (fig. 1B). O floema secundário apresenta cristais (fig. 1D). A zona cambial constitui-se de algumas (3-5) camadas de células de parede delgada justapostas em processo de divisão e diferenciação (fig. 1D).

O xilema secundário possui, em sua maioria, elementos de vaso solitários, também ocorrendo geminados e agrupados (fig. 1E, 1F) com parênquima axial e fibras bem evidentes (fig. 1E). O xilema primário apresenta-se com células de protoxilema e metaxilema envolvidos por tecido parenquimático. A medula é constituída por células parenquimáticas com cristais prismáticos (fig. 1F).

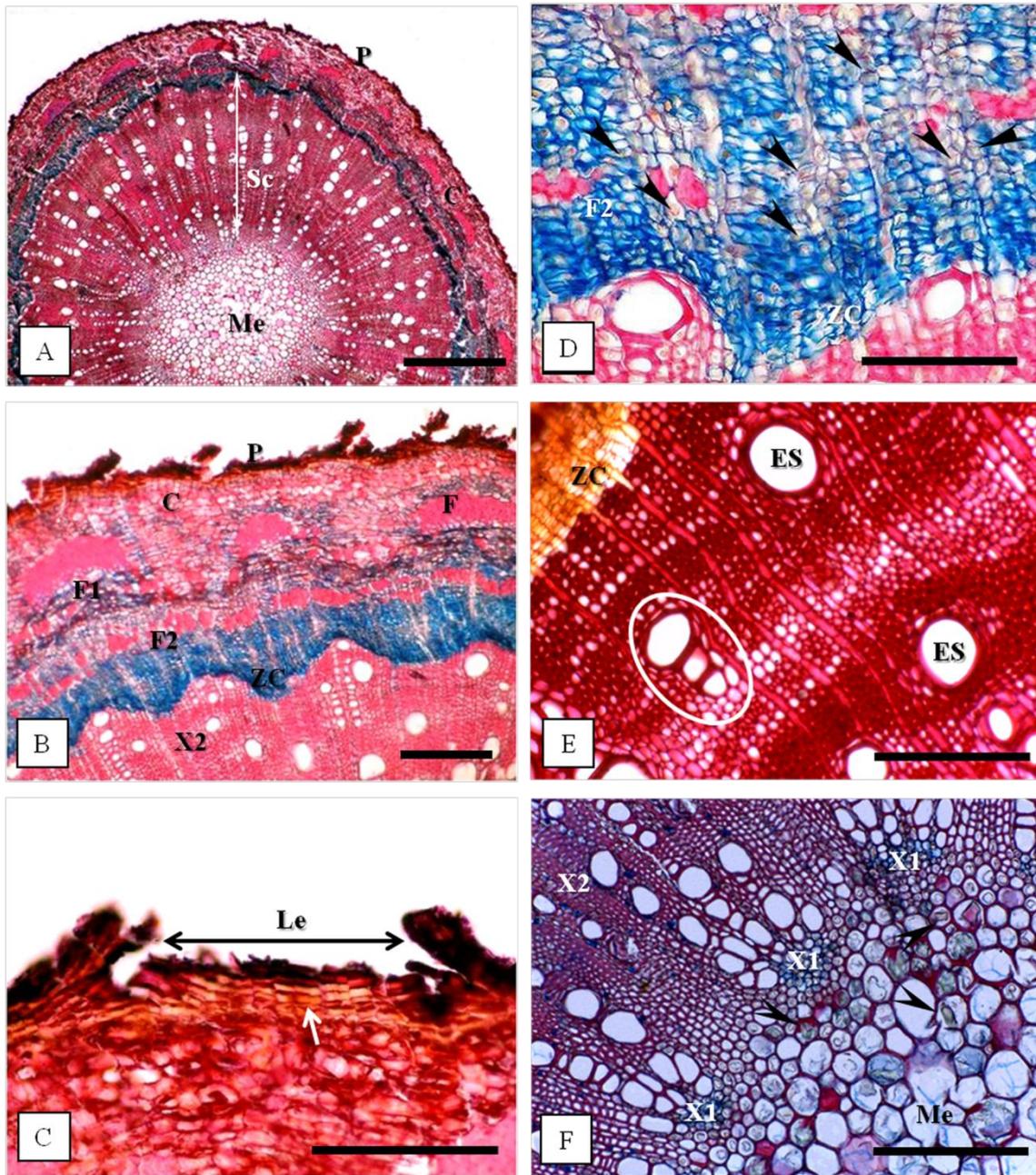


Fig. 1 Secção transversal do caule em crescimento secundário de *D. miscolobium*. *A*, Visão geral. *B*, Detalhe da periderme, córtex, floema primário e secundário, zona cambial e xilema secundário. *C*, Detalhe da lenticela e felogênio. Seta: felogênio; seta dupla: extensão da lenticela. *D*, Córtex e floema secundário com cristais prismáticos (ponta de seta) e zona cambial. *E*, Detalhe do xilema secundário evidenciando elementos de vaso solitários (ES) e elementos de vaso agrupados (região circundada). *F*, Detalhe do xilema secundário, primário e medula, com cristais prismáticos (ponta de seta). C: córtex; F: fibras; F1: tecido floemático primário; F2: tecido floemático secundário; Le: lenticela; Me: medula; P: periderme; Sc: sistema condutor; X1: tecido xilemático primário e X2: tecido xilemático secundário; ZC: zona cambial. Dupla coloração em *A*, *B*, *C*, *D* e *F*; safranina 1% em *E*. Barra: 200 μ m.

3.2. Descrição anatômica da raiz epicortical de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler

Sob secção transversal, a raiz epicortical de *P. ovata* apresenta formato circular (fig. 2A) e início de crescimento secundário (fig. 2A, 2B) com zona cambial. A periderme possui ≥ 4 camadas celulares e resquício de epiderme recoberta por cutícula espessa (fig. 2B), por vezes se rompendo, as células epidérmicas estão colapsadas. O córtex é composto por alguns grupos de esclereídes e tecido parenquimático, com espaços intercelulares grandes (fig. 2B). As células parenquimáticas apresentam conteúdo denso em decorrência de compostos fenólicos (fig. 2B–2D; tabela 1). Há também conteúdo amiláceo em abundância (fig. 2D; tabela 1). O floema primário é escasso e envolto por calotas de fibras, seguido do floema secundário, com compostos fenólicos nas células parenquimáticas (fig. 2C; tabela 1). A zona cambial é pouco evidente com número variável de camadas (fig. 2B, 2C, 2E). O parênquima radial é nítido e contínuo aos tecidos xilemáticos e floemáticos secundários (fig. 2B, 2C, 2E).

O xilema secundário tem elementos de vaso que ocorrem comumente agrupados, também em menor frequência solitários e geminados (fig. 2B, 2C, 2F). As fibras do tecido xilemático secundário mostram-se evidentes, assim como o tecido parenquimático axial (fig. 2C, 2F). O parênquima radial é multisseriado (fig. 2F). A medula é parenquimática e possui fibras isoladas (fig. 2F), as células parenquimáticas, assim como as células corticais, possuem conteúdo rico em amido (tabela 1).

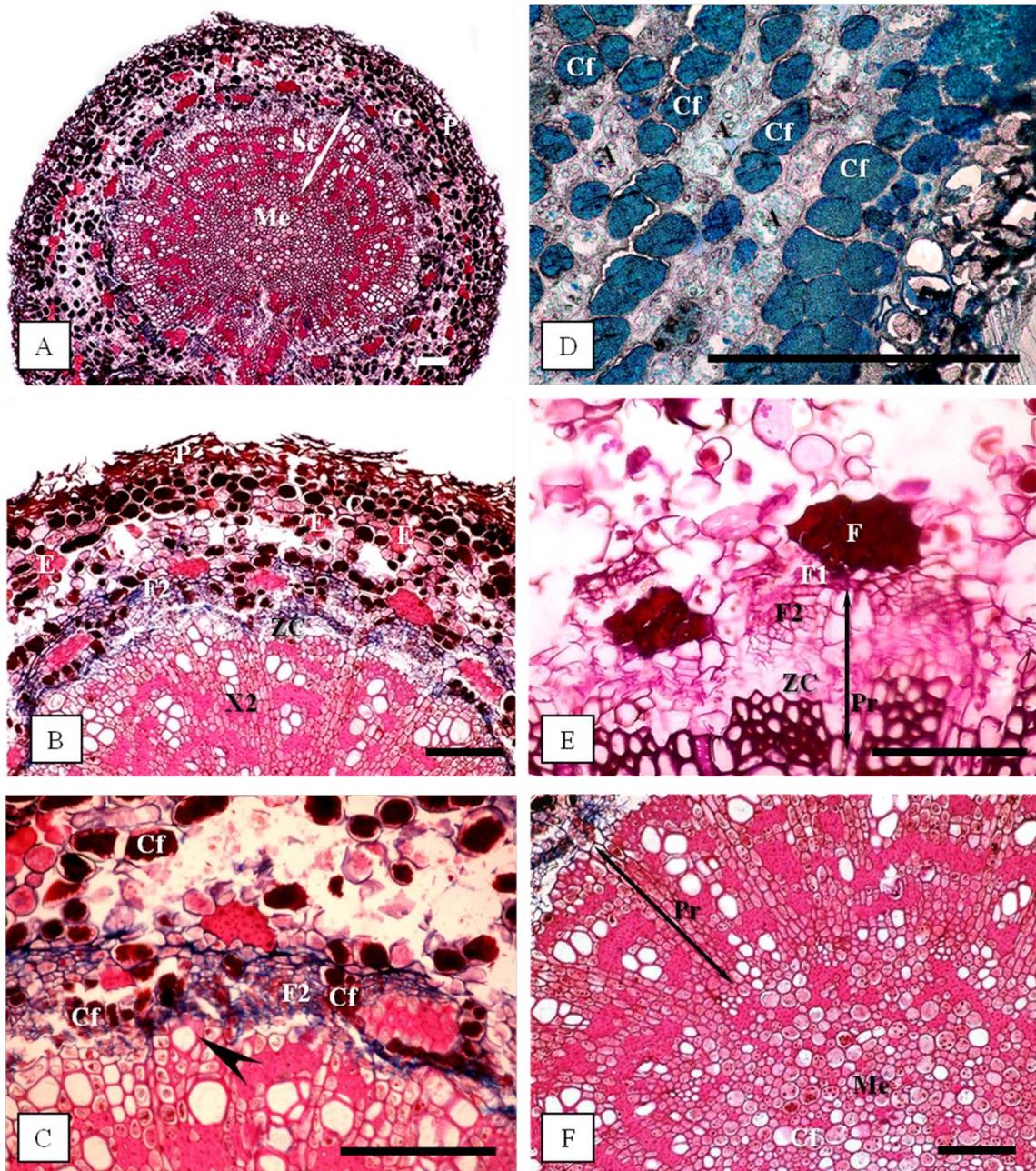


Fig. 2 Secção transversal da raiz epicortical em início de crescimento secundário de *P. ovata*. Barra: A, Visão geral. B, Detalhe da periderme, córtex (algumas células com compostos fenólicos), floema secundário, zona cambial e xilema secundário. C, Detalhe do cilindro vascular: compostos fenólicos em células parenquimáticas do tecido floemático secundário, diferenciação do elemento de vaso (ponta de seta). D, Células corticais apresentando conteúdo amiláceo e fenólico. E, Detalhe da zona cambial e floema secundário com evidente continuidade do tecido parenquimático radial aos tecidos secundários, xilémico e floemático (seta dupla). F, Xilema secundário e medula, com fibras evidentes na medula (setas). A: conteúdo amiláceo; C: córtex; Cf: compostos fenólicos; E: esclereídes; F: fibras; F1: tecido floemático primário; F2: tecido floemático secundário; Me: medula; P: periderme; Pr e seta dupla: parênquima radial; Sc: sistema condutor; X2: tecido xilémico secundário; ZC: zona cambial. Dupla coloração em A, B, C e F; azul de toluidina em D e tripla coloração 3:1:3 em E. 200 μ m.

3.3. Anatomia do haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler

As RE de *P. ovata* são esverdeadas quando muito jovens (fig. 3A) e crescem principalmente paralelas e muito próximas ao ramo da hospedeira *D. miscolobium* (fig. 3B, 3C). As RE mantêm contato com a periderme da hospedeira e em intervalos irregulares emitem haustórios secundários. Estes são evidentes externamente apenas pela ligeira expansão lateral na região em que é formado (fig. 3C).

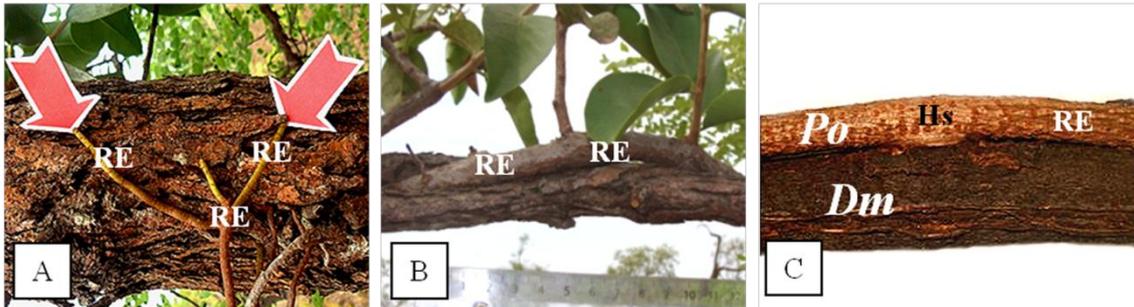


Fig. 3 Raízes epicorticais de *P. ovata*. A, RE muito jovens no caule de *D. miscolobium*. Note que crescem junto às fissuras na casca (setas). B, RE madura em ramo lateral da hospedeira. C, Detalhe de haustório secundário emitido pela RE de *P. ovata* em *D. miscolobium*. Dm: *D. miscolobium*; Hs: Haustório secundário; Po: *P. ovata*; RE: Raízes epicorticais.

Em secção transversal, nota-se projeção da RE, alterando o formato da RE, entre as fissuras na periderme (em ramos mais espessos) da hospedeira (fig. 4A). Já em galhos jovens e finos, a emissão dos haustórios secundários de *P. ovata* ocorre pelas lenticelas da periderme da hospedeira *D. miscolobium* (fig. 4B).

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 para manter contato próximo, em direção à lenticela (fig. 4A, 4B) e posteriormente comprimem as regiões adjacentes às lenticelas da casca da hospedeira (fig. 4C). Células parenquimáticas corticais voltam a se dividir anticlinal e periclinalmente para iniciar o processo de penetração haustorial e se tornam alongadas, ligeiramente paliçadas (fig. 4D). Notam-se compostos fenólicos (tabela1) nas células corticais da hemiparasita sobre galhos hospedeiros mais grossos e com casca fissurada (fig. 4D, 4E). As células epidérmicas da hemiparasita também se tornam alongadas e com núcleos proeminentes antes do rompimento peridérmico da hospedeira (fig. 4F).

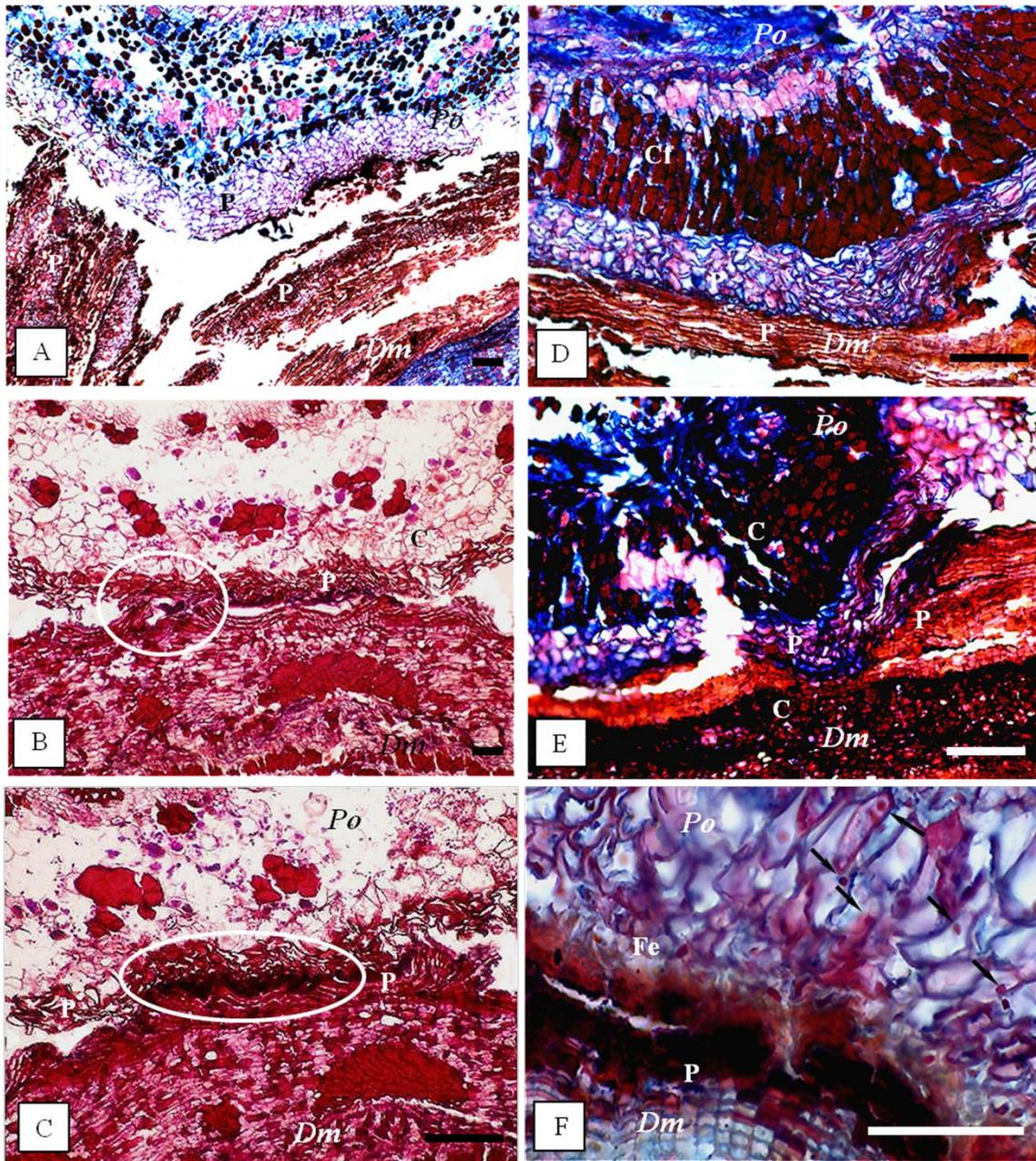


Fig. 4 Secção transversal da emissão do haustório secundário de *P. ovata* em *D. miscolobium*. A, RE de *P. ovata* projetando-se entre as fissuras da casca de *D. miscolobium*. B, RE de *P. ovata* projetando tecido peridérmico pela lenticela (círculo) em *D. miscolobium*. C, Tecido peridérmico de *P. ovata* entre e nas lenticelas de *D. miscolobium* (com círculo). D, Detalhe das células corticais alongadas de RE de *P. ovata* em galho hospedeiro com espessa periderme. E, Tecido peridérmico de *P. ovata* penetrando na casca de *D. miscolobium*. F, Detalhe das células peridérmicas com grande núcleo (setas) de *P. ovata* na região de contato com a casca de *D. miscolobium*. C: córtex; Cf: compostos fenólicos; Dm: *D. miscolobium*; F: felema; P: periderme; Po: *P. ovata*. Dupla coloração safranina: azul de alcian (4:1) em 4A, 4D, 4E e 4F; e tripla coloração 1:1:1 em 4B e 4C. Barra: 200 μ m.

A ruptura da periderme, tecido cortical e floemático de *D. miscolobium* ocorre entre as fibras (fig. 5A) e é acompanhada pela entrada das células de *P. ovata* (Fig. 5B, 5C). Algumas camadas acima dessas células, está em diferenciação um grupo de braquiesclereídes contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio (tabela 1), sendo que os esclereídes periféricos são células cristarque (esclereíde com cristal em que o espessamento da parede ocorre em formato de “U”) (fig. 5B). Próximo aos haustórios já formados, é notória a divisão periclinal e anticlinal das células de *P. ovata* durante a penetração do córtex da hospedeira (fig. 5D). A penetração do haustório no parênquima cortical do órgão da hospedeira projeta-se em uma única direção (fig. 5D). Contudo, após o rompimento do córtex na região contígua às fibras, as células da hemiparasita penetram em *D. miscolobium* em diferentes direções (fig. 5E), por entre o floema e zona cambial rompidos, rumo às camadas externas do xilema secundário. Ao alcançar o xilema secundário de *D. miscolobium*, a interface hemiparasita-hospedeira é inicialmente composta por células parenquimáticas da hemiparasita e células do tecido xilemático secundário da hospedeira (fig. 5F).

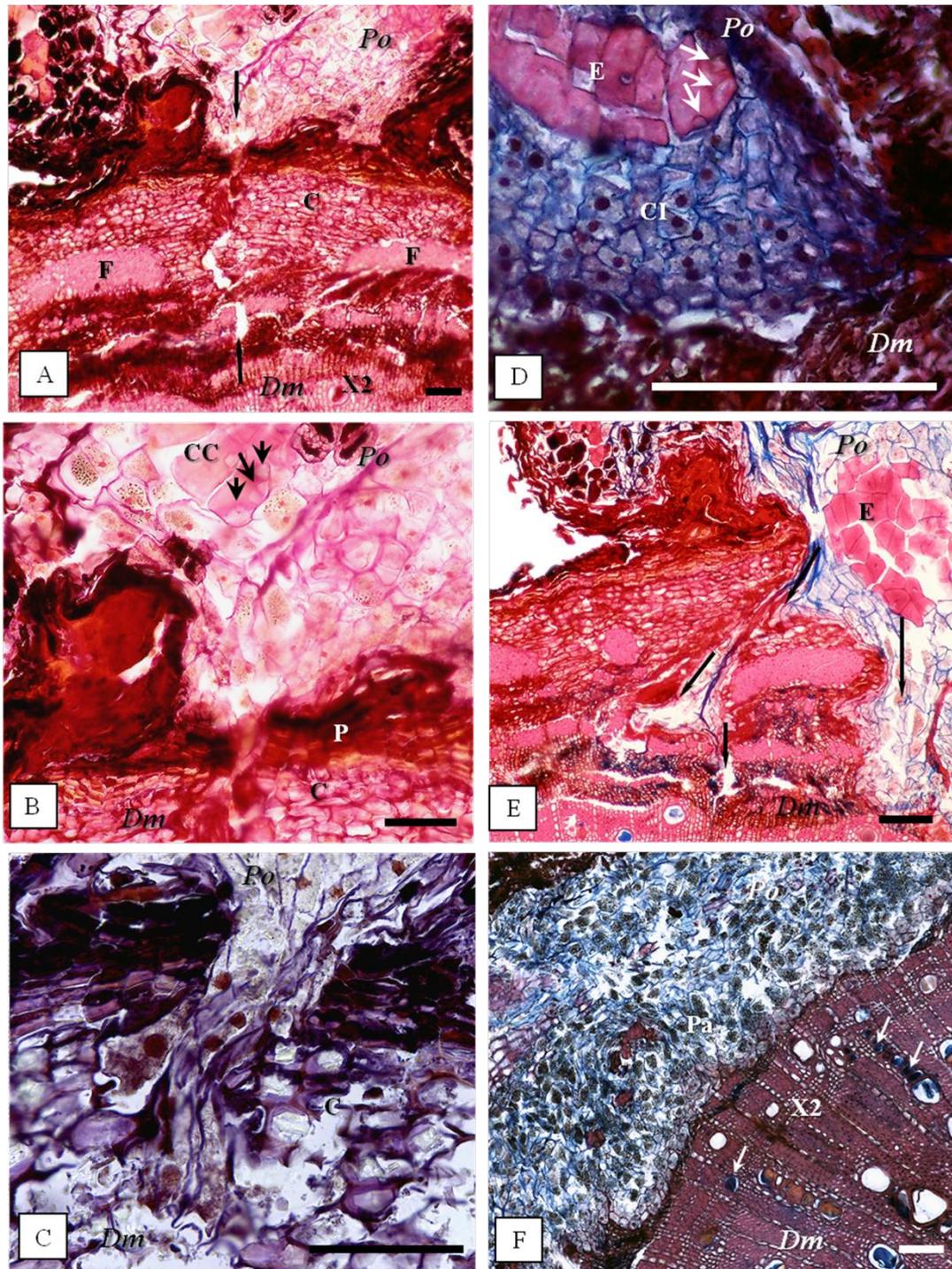


Fig. 5 Penetração de *P. ovata* em *D. miscolobium*. A, Ruptura dos tecidos peridérmico, cortical e floemático de *D. miscolobium* na região em contato com *P. ovata*. Setas indicam extensão da ruptura. B, Células de *P. ovata* e células cristarque (grupo de braquiesclereídes em diferenciação) na região de ruptura da periderme hospedeira. Cristais das células cristarque: setas. C, Células de *P. ovata* no córtex rompido da hospedeira. D, Células de *P. ovata* em divisão durante penetração adjacente a outro haustório. Cristais das células cristarque: setas. E, Células de *P. ovata* (setas) rumo ao xilema secundário da hospedeira. F, Interface de contato parasita-hospedeira inicial. Setas: tiloses. C: córtex; CC: células cristarque; Dm: *D. miscolobium*; E: grupo de braquiesclereídes contendo cristais, sendo que os periféricos são células cristarque; F: fibras; P: periderme; Pa: tecido parenquimático; Po: *P. ovata*; T: tilose; e X2: tecido xilemático secundário. Tripla coloração 1:1:1 em A, B e E; tripla coloração 3:1:3 em C; e dupla coloração safranina: azul de alcian (4:1) em D e F. Barra: 100µm.

Após a penetração, forma-se o corpo axial do endófito e durante seu crescimento estende-se uma (fig. 6A) ou duas projeções laterais que ocorrem tangencialmente ao xilema secundário da hospedeira (fig. 6A, 6BI). Quando há duas projeções laterais, elas são heterogêneas quanto ao comprimento e juntas podem circundar até metade do cilindro xilemático da hospedeira. Posteriormente ao estabelecimento do endófito, observa-se que a diferenciação das células sucede-se em todo o endófito havendo uma progressão desta diferenciação da hemiparasita para a interface de contato com a hospedeira (fig. 6A, 6BI). Lateralmente formam-se zonas de colapso (fig. 6BI). Nas regiões periféricas do endófito estão presentes grupos de braquiesclereídes contendo cristais de oxalato de cálcio, sendo que os periféricos são células cristarque (fig. 6BI).

Na região penetrada pela hemiparasita, córtex e floema da hospedeira são deslocados e rompidos (figs. 5E, 6A, 6BI). Em regiões não-parasitadas, podem ocorrer algumas tiloses e a zona cambial da hospedeira tem desenvolvimento normal (fig. 6BI). Já nas regiões parasitadas, o câmbio vascular é ativo, formando apenas xilema (fig. 6B2).

Inicialmente, na região central do haustório ocorre um porção de células notadamente meristemática com intensa coloração e núcleos proeminentes, as derivadas se diferenciam em grupos de elementos de vaso e de braquiesclereídes (fig. 6C, 6D). Os elementos de vaso do endófito são curtos com placas de perfuração simples e estão arranjados irregularmente, tendendo a formar cordões (fig. 6C–6E). Eles geralmente possuem espessamento de parede escalariforme ou reticulado (fig. 6D), também sendo possível encontrar anelar e helicoidal. Entre os cordões de elementos de vaso e a interface parasita-hospedeira há camadas de células parenquimáticas (fig. 6E). Com o desenvolvimento e amadurecimento do haustório, formam-se cordões axiais de elementos de vaso e de grupos de braquiesclereídes contendo cristais, sendo que os periféricos são células cristarque, principalmente na região central do haustório (fig. 6F1). Podem ser notados cristais prismáticos também no tecido parenquimático (fig. 6F2), adjacente às células cristarque (fig. 6F3).

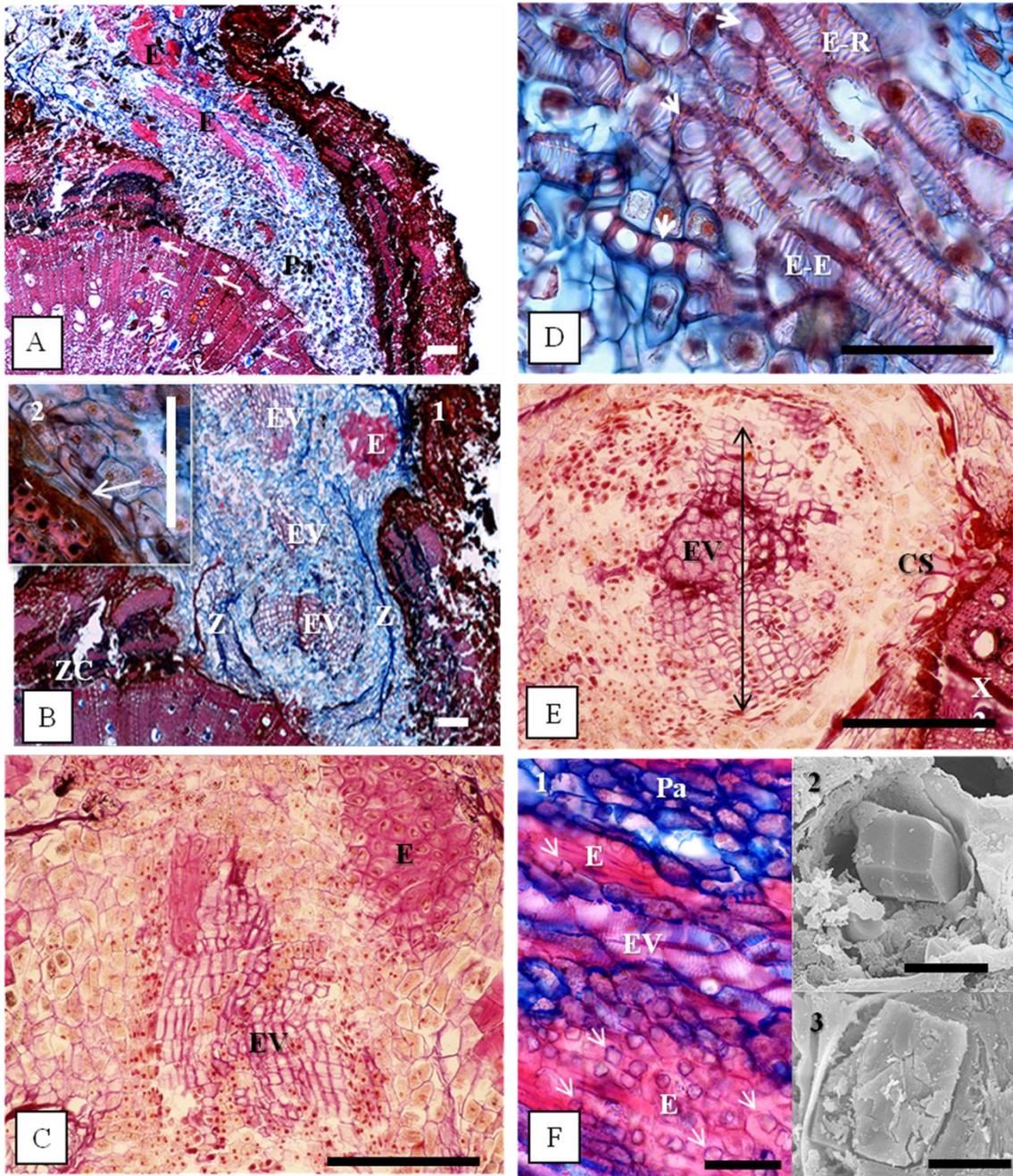


Fig. 6 Diferenciação do endófito de *P. ovata*. *A*, Início da diferenciação do endófito com uma projeção lateral (arco). Setas: tiloses *B1*, Endófito com cordões de elementos vaso na região central e grupos de esclereídes contendo cristais (periféricos são células cristarque) na porção periférica do endófito. Região não-parasitada com zona cambial normal. *B2*, Câmbio vascular de *D. miscolobium* na região parasitada (seta). *C*, Detalhe da diferenciação do tecido haustorial em elementos de vaso e células cristarque. *D*, Detalhe dos elementos de vaso com espessamento de parede reticulado e escalariforme. Nota-se placa de perfuração simples (seta). *E*, Diferenciação celular em elementos de vaso (\leftrightarrow) e em células sugadoras. *F1*, Cordões de células cristarque e de elementos de vaso na matriz parenquimatosa haustorial. Setas – cristais das células cristarque. *F2*, Cristal em célula parenquimática. *F3*, Cristal da célula cristarque. *E*: grupo de braquiesclereídes contendo cristais, sendo que os periféricos são células cristarque; *CS*: células sugadoras; *EV*: elementos de vaso; *E-E*: EV com espessamento escalariforme; *E-R*: EV com espessamento reticulado; *Pa*: tecido parenquimático; *Z*: zona de colapso; *ZC*: zona cambial. Dupla coloração em *A*, *B*, *D* e *F1*; tripla coloração 1:1:1 em *C* e *E*. Barra: 200 μ m em *A*, *B1*, *C* e *E*; 100 μ m em *B2*, *D* e *F1*; 10 μ m em *F2* e *F3*.

Na região interfacial hemiparasita-hospedeira, a partir do momento que células de *P. ovata* chegam às camadas mais externas do xilema secundário da hospedeira, algumas dessas células se diferenciam gradativamente em células sugadoras (fig. 6E). Já diferenciadas (fig. 7–8), elas são alongadas (fig. 7B, 7C, 8B, 8D, 8E), possuem conteúdo denso, núcleo grande (fig. 7B) e parede celular espessada (fig. 7–8).

As células sugadoras se diferenciam em direção ao parênquima radial do xilema secundário da hospedeira (fig. 7A, 7C) e ocorrem no interior dos raios dividindo-se periclinalmente (fig. 7A, 7C, 8A), mas não atingem a medula. Quando em contato direto com os elementos de vaso (fig. 7B, 7C), emitem divertículos para o interior desses (fig. 7C, 7D). Em seções longitudinais, as células sugadoras apresentam curvatura antes de entrarem em contato com células do tecido parenquimático radial e elemento de vaso do xilema secundário da hospedeira (fig. 7B, 8B, 8C). Além disso, células sugadoras são mais frequentes em haustórios secundários maduros em relação aos haustórios jovens.

Células parenquimáticas também compõe a interface hemiparasita-hospedeira (fig. 7A, 7D, 8B). Nota-se, contudo, que é nas adjacências das células sugadoras que a diferenciação de elementos de vaso endofíticos é notória (fig. 7D). Esses elementos de vaso se distanciam das células sugadoras apenas por poucas camadas de células parenquimáticas (fig. 7A, 7D). Nas adjacências dessa área em diferenciação, formam-se zonas de colapso que se dispõem como um sino ou vaso invertido. Nas camadas mais próximas a interface parasita-hospedeira há grande deposição de material escuro.

Já desenvolvido, o corpo endofítico de *P. ovata* é formado de células da interface de contato, córtex parenquimático endofítico e tecido vascular xilemático. O último é composto por parênquima, elementos de vaso e grupos de esclereídes contendo cristais. Não foi encontrada evidência de continuidade floemática entre o tecido vascular da hemiparasita e o endófito, nem elementos floemáticos no endófito. Em todo o órgão absorptivo, tanto jovem quanto maduro até a RE da hemiparasita, é constante amiloplastos nas células parenquimáticas.

Tilos podem ser observados em elementos de vaso de *D. miscolobium*, desde o início da penetração haustorial (fig. 5F, 6A, 7B). Estes são encontrados apenas do lado do contato hemiparasita-hospedeira (fig. 6A). Além disso, testes histoquímicos apontam compostos fenólicos nos tecidos parenquimáticos axial (fig. 7D) e radial e em elementos

de vaso do xilema secundário de *D. miscolobium* na zona próxima à interface haustorial. Um material escuro, em tom azul, também ocorre preenchendo algumas fibras na região parasitada (fig. 7D).

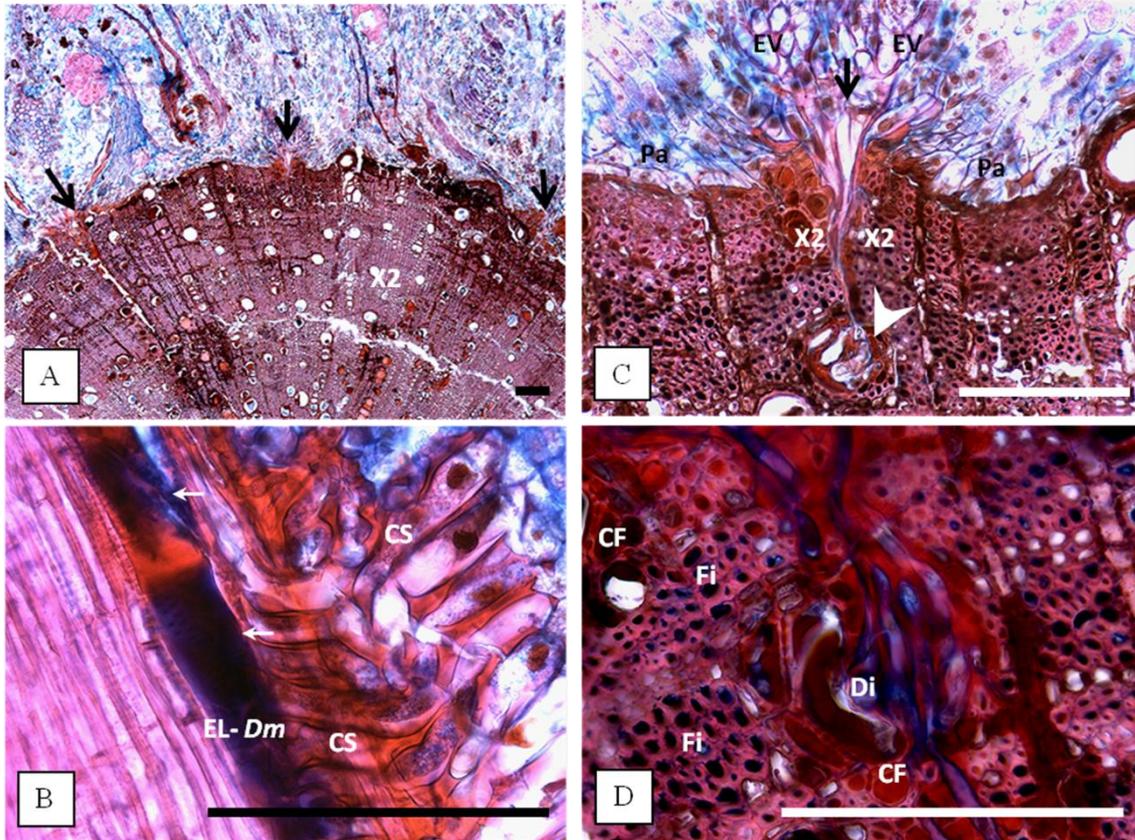


Fig. 7 Células sugadoras de *P. ovata*. A, Células sugadoras (indicadas por setas) se espessam e entram no parênquima radial do xilema secundário da hospedeira. B, Detalhe das células sugadoras em contato com elemento de vaso de *D. miscolobium* preenchido por tilose (setas). C, Células sugadoras (seta) penetram no parênquima radial e divertículos são emitidos no elemento de vaso (cabeça de seta) do xilema secundário da hospedeira. Notam-se elementos de vaso da hemiparasita próximo às células sugadoras. D, Detalhe do divertículo das células sugadoras de *P. ovata* no interior do elemento de vaso da hospedeira. Notam-se compostos fenólicos no parênquima axial e composto azulado de natureza desconhecida nas fibras do xilema secundário da hospedeira. CF: compostos fenólicos; CS: Células sugadoras; Di: divertículo; EL-Dm: elemento de vaso de *D. miscolobium*; EV: elementos de vaso da hemiparasita; Fi: fibras; Pa: células parenquimáticas da interface de contato; X2: tecido xilemático secundário. Dupla coloração. Barra: 200 μ m.

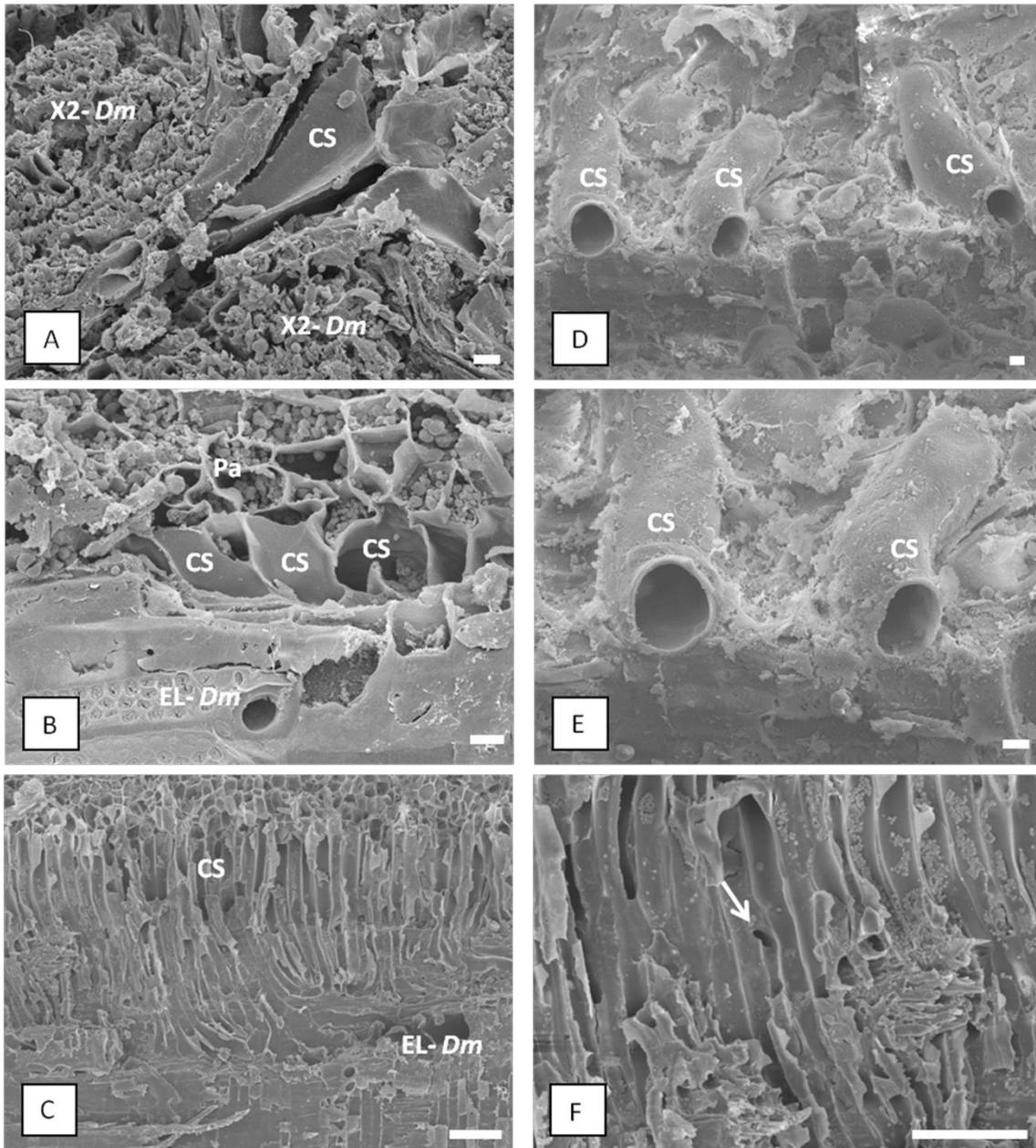


Fig. 8 Micromorfologia das células sugadoras de *P. ovata*. A, Células sugadoras de *P. ovata* entre células de tecido xilemático secundário de *D. miscolobium*. B, Células sugadoras em contato com elemento de vaso de *D. miscolobium*, com células parenquimáticas acima dessas. C, Células sugadoras curvam-se em direção ao parênquima radial e elemento de vaso de *D. miscolobium*. D, Detalhe da células sugadoras longas com parede espessada. E, Detalhe da parede das células sugadoras. F, Comunicação entre células sugadoras adjacentes (seta). CS: células sugadoras; EL- *Dm*: elemento de vaso de *D. miscolobium*; Pa: tecido parenquimático; X2- *Dm*: tecido xilemático secundário de *D. miscolobium*. A 11KV em A e a 15KV em B, C, D, E e F. Barra 10 µm em A, B, D e E e 100 µm em C e F.

Tabela 1 Resultados dos testes histoquímicos realizados em raízes epicorticais (RE) e no haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler.

Teste histoquímico (composto)	Tecidos corados	
	RE	Haustório secundário
Lugol (grãos de amido)	Parênquima cortical, parênquima radial e medula parenquimática	Células parenquimáticas endofíticas
Sudan III (cutina)	Felema	Não observado
Sudan IV (cutina)	Felema	Não observado
Dicromato de potássio 10% (compostos fenólicos)	Córtex, floema secundário e ocasionalmente parênquima radial	Tecido parenquimático periférico do corpo endofítico
Ácido acético glacial PA* (carbonato de cálcio)	Não observado	(-) : Grupo de esclereídes e tecido parenquimático endofítico
Ácido clorídrico 10%* (carbonato de cálcio)	Não observado	(-) : Grupo de esclereídes e tecido parenquimático endofítico
Ácido nítrico 10%* (oxalato de cálcio)	Não observado	(+) : Grupo de esclereídes e tecido parenquimático endofítico

* - uso exclusivo para evidenciar a natureza química dos cristais. (+):houve dissolução do cristal. (-): não houve dissolução do cristal.

4. DISCUSSÃO

4.1. Raiz epicortical de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler

Os tipos de revestimento das hemiparasitas aéreas têm sido investigados por alguns autores (Calvin 1970; Metcalfe e Chalk 1979; Wilson e Calvin 2003; Dettke e Milaneze-Gutierre 2009) com o intuito de agrupar características de potencial taxonômico e aumentar o conhecimento a respeito desse grupo (Metcalfe e Chalk 1979; Wilson e Calvin 2003). Metcalfe e Chalk (1979) citaram que algumas espécies de Loranthaceae formam “súber superficial”, tais como *Loranthus* Jacq. e *Nuytsia* R. Br. ex G. Don. Nas espécies que não há formação desse tecido, os autores descreveram o revestimento superficial como epitélio cuticular, formado pela epiderme e estratos corticais, que atualmente é creditada aos membros de Viscaceae, anteriormente subfamília de Loranthaceae. Esse epitélio cuticular tem sido reportado em algumas espécies de Viscaceae (Calvin 1970; Wilson e Calvin 2003) e de Santalaceae (Wilson e Calvin 1996; Wilson e Calvin 2003).

Contudo, na raiz epicortical de *P. ovata* foi encontrado tecido peridérmico e células epidérmicas remanescentes, o que não se enquadra nas definições descritas por

Metcalf e Chalk (1979), assim como *Tupeia antarctica* (G. Forst.) Cham. & Schltdl. (Wilson e Calvin 2003). A formação de periderme também foi descrita para alguns gêneros de Santalaceae (Metcalf e Chalk 1950) e em Loranthaceae (Wilson e Calvin 2003), como observado em *P. ovata*. Esses últimos autores ainda afirmam que periderme e lenticelas são especialmente comuns em espécies com raízes epicorticais. Os dados encontrados em *P. ovata* corroboram essa afirmação dos autores.

As células parenquimáticas de *P. ovata* apresentam conteúdo fenólico, fato já constatado em outras espécies de Loranthaceae (Venturelli 1984 *apud* Dettke e Milaneze-Gutierrez 2009; Salatino et al. 1993; Chiu 2005) e também nos caules de algumas espécies de Viscaceae (Metcalf e Chalk 1950; Dettke e Milaneze-Gutierrez 2009). Além do córtex da RE, compostos fenólicos também foram observados nas células floemáticas de *P. ovata*, como em *Gaiadendron* (Kuijt 1964b) e no parênquima radial, fato também em *Struthanthus vulgaris* Mart nas RE, chamadas pelos autores de raízes adventícias. É interessante salientar que na medula da RE de *P. ovata* não foi visualizado conteúdo fenólico, em contraste ao descrito por Chiu (2005) para a hemiparasita aérea *Taxillus tsaii* S. T. Chiu e ocasionalmente em *S. vulgaris* (Salatino et al. 1993). Como citado nesses trabalhos, o acúmulo desses compostos pode estar relacionado à proteção ao ataque de patógenos e herbívoros.

4.2. Penetração do haustório de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler

Na espécie em estudo, observou-se que a RE mantém-se contígua às fissuras do felema e os processos de adesão e de penetração do haustório secundário ocorreram pelas lenticelas da planta hospedeira. Estudos anteriores a respeito da 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 e 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 no tecido de revestimento 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 (Mazzoni-Viveiros e Costa 2006), assim como as fissuras. Outras espécies hospedeiras de *P. ovata* (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. ex Juss. e *B. coccolobifolia* Kunth (Malpighiaceae), *Miconia albicans* (Sw.) Steud. (Melastomataceae), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae), *Styrax ferrugineus* Nees e Mart. (Styracaceae), *Qualea multiflora* (Mart.) e *Vochysia* Aubl. sp. (Vochysiaceae)) também apresentam os caracteres no tecido de revestimento supracitados, ou seja, lenticelas e/ou fissuras na casca. Esses caracteres podem facilitar o processo de penetração, pois são regiões menos espessas da casca, o que diminui a resistência do tecido de revestimento à infestação parasítica.

Um estudo realizado numa área de Cerrado com o estabelecimento da hemiparasita aérea *Struthanthus* aff. *polyanthus* Mart. revelou que esse ocorreu preferencialmente em espécies hospedeiras de casca “rugosa” – incluindo nessa 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 da hemiparasita pelo vento do que em galhos rugosos. Assim como um ramo fissurado pode aumentar a aderência das sementes de hemiparasitas, ele pode também facilitar a penetração dos haustórios secundários pela menor espessura da casca nessas fissuras.

Além do íntimo contato da RE com áreas menos espessas da casca da hospedeira que favorece a penetração, as células do tecido de revestimento de *P. ovata* em contato com a hospedeira modificam o formato e provavelmente, desempenham papel importante na adesão da parasita na hospedeira (Kuijt 1971; Dobbins e Kuijt 1974a; Venturelli 1980; Lee 2007). Antes da diferenciação das células epidérmicas, *P. ovata* apresenta, na região de contato com a hospedeira, grupos de esclereídes contendo cristais (sendo que os esclereídes periféricos são células cristarque) e zonas colapsadas. Esclereídes são muito comuns neste ponto de entrada em hemiparasitas aéreas (dados revisados por Kuijt 1969).

Quanto às zonas colapsadas, Thoday (1951) afirmou que essas são similares às raízes contráteis, pois 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 (Wilson e Hooney 1966), 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).

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. Como resultado à pressão para penetração da hemiparasita, pode-se observar que há a ruptura do sistema de revestimento epidérmico ou peridérmico da hospedeira que não é plástico (Mazzoni-Viveiros e Costa 2006), e também de tecidos mais internos, como o córtex e floema secundário de *D. miscolobium*.

Segundo Kuijt (1969), uma característica a ser especulada nos haustórios santaleanos é a presença da glândula. Kuijt (1971) afirma que esse atributo seria preponderante em haustórios secundários, porém não foi observada nos haustórios secundários de *P. ovata* nesse estudo e nos de *P. pyriformis* estudado por Kuijt (1965). Além disso, Condon e Kuijt (1994) não a observaram no haustório primário de *Ileostylus micranthus* Tiegh., nem Kuijt (1964b) em *Gaiadendron*, contudo foi encontrada no haustório primário de *Struthanthus quercicola* (Schltdl. & Cham.) Blume (Kuijt 1971), *P. pyriformis* (Dobbins e Kuijt 1974b) e *S. vulgaris* (Venturelli 1980). Esses dados têm mostrado quão “enigmática” é essa estrutura que carece de mais estudos para confirmar a persistência ou ausência desse caracter e ainda testar sua função inicial, que seria de agir na superfície hospedeira antes da penetração ou ação durante esse processo (Toth e Kuijt 1976; Venturelli 1980).

Em *P. ovata*, não há evidências de mecanismos químicos envolvidos na ruptura dos tecidos hospedeiros. Em caso de ação enzimática pela hemiparasita, haveria fragmentos celulares provenientes de lise celular da hospedeira na região de penetração (Kuijt 1977). Esse padrão de ruptura do tecido de revestimento da hospedeira, somente mecânico, também foi relatado para outras hemiparasitas aéreas santaleanas por Mathiasen et al. (2008).

4.3. Estrutura e desenvolvimento do haustório secundário de *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler

Após o endófito alcançar o xilema da hospedeira e se conectar ao xilema da hospedeira, a estrutura do haustório de *P. ovata* se ramifica. Kuijt (1965) sugere que após o estabelecimento da conexão haustorial, as células parenquimáticas da região central do endófito podem favorecer o mecanismo intrusivo da parasita. Esse autor observou em estudos com lorantáceas, como visto nesse estudo, que as projeções laterais do endófito separam o tecido floemático do xilemático da hospedeira na região cambial. Embora o câmbio vascular seja parcialmente destruído, esse permanece ativo; não sendo observado apenas nas proximidades das células sugadoras de *P. ovata*. Já na região não-parasitada, o câmbio vascular da hospedeira continua sua atividade normal (Venturelli 1980).

Em estádios bem avançados de diferenciação, observa-se que essas ramificações só ocorrem no ano de estabelecimento, ou seja, não há ramificações anuais, semelhante ao haustório secundário de *Ileostylus micranthus* (Condon e Kuijt 1994) e *Santalum acuminatum* (R. Br) A. DC. (Tennakoon et al. 1997). Essa extensão do haustório no interior da hospedeira têm recebido diferentes denominações (Venturelli 1980; Condon e Kuijt 1994; Tennakoon et al. (1997) e nesse trabalho foi chamada de projeção lateral (Tennakoon et al. 1997). Em *P. ovata*, essa projeção pode ocorrer apenas para um dos lados ou ser bilateral, o que a difere da espécie *P. pyrifolia*, em que apenas uma projeção lateral foi relatada (Thoday 1961), um atributo que pode ser consequência da idade do haustório.

Quando desenvolvido, o endófito de *P. ovata* é organizado por células parenquimáticas (ocasionalmente com cristais prismáticos de oxalato de cálcio), elementos traqueais, grupos de esclereídes contendo cristais sendo que os periféricos são células cristarque, zonas colapsadas e células sugadoras. Braquiesclereídes e idioblastos contendo cristais prismáticos, como relatado nesse estudo, são frequentes em folhas, caule e haustório de hemiparasitas aéreas (Kuijt 1964b; Metcalfe e Chalk 1979; Wilson e Calvin 1996; Ashworth e Santos 1997; Kuijt e Lye 2005a; Dettke e Milaneze-Gutierrez 2009). Inclusive esclereídes formando células cristarque já foram encontradas nas venações foliares de *Phthirusa pyrifolia* (Kuijt 1964b) e de *Phthirusa lepidobotrys* Eichler (Kuijt e Lye 2005a). Já no endófito, esclereídes (sem cristais) no interior do

corpo haustorial são encontrados apenas em algumas hemiparasitas aéreas (Kuijt 1969), como por exemplo, em *Psittacanthus ramiflorus* (Kuijt e Lye 2005b) e nas regiões periféricas do endófito de *S. vulgaris* (Venturelli 1980).

Funcionalmente os cristais prismáticos (em idioblastos e esclereídes) conferem à planta proteção contra a herbivoria e servem de depósitos de cálcio, enquanto os esclereídes dão rigidez, sustentação e também proteção às plantas. Esses idioblastos e braquiesclereídes com cristais prismáticos encontrados em *P. ovata* aliados às células sugadoras, que ocorrem no parênquima radial e nos elementos de vaso do xilema secundário da hospedeira (será discutido em detalhes no tópico 4.4), podem ser características distintivas desse gênero ou dessa espécie.

Características de parasitas santaleanas (Kuijt 1977), as zonas de colapso também ocorrem em *P. ovata* e se localizam especialmente próximas às células sugadoras da interface de contato. Kuijt (1971) observou zonas colapsadas no haustório primário de *Struthanthus quercicola* (Schltdl. & Cham.) Blume e também Venturelli (1980) ao estudar o haustório primário de *Struthanthus vulgaris* (Vell.) Mart. Condon e Kuijt (1994) alegam que os tecidos desta zona têm uma predisposição ao colapso. Já os elementos traqueais de *P. ovata* possuem lignificação semelhante à de outras lorantáceas (Kuijt 1964a; Kuijt 1965; Kuijt 1969; Calladine e Pate 2000), assim como o desenvolvimento (diferenciação dos mesmos), que só ocorre após o contato com os tecidos hospedeiros (Riopel e Musselman 1979; Calladine e Pate 2000). Eles se diferenciam em todas as regiões do eixo haustorial convergindo para a interface de contato, especialmente para as células sugadoras.

Tecido floemático não foi observado no corpo do haustório de *P. ovata*, corroborando com as características vasculares de outras hemiparasitas (Rao 1942; Kuijt 1969; Calladine e Pate 2000), com algumas exceções (Calvin 1967; Condon e Kuijt 1994). Isso pode caracterizar que o transporte de carboidratos dissolvidos não aconteça da raiz epicortical para o endófito. Além disso, a ausência de contato com o floema hospedeiro ou formação de células floemáticas por *P. ovata* reforçam que esta hemiparasita depende apenas da conexão xilemática, assim como visto nas demais lorantáceas por Nickrent (2002) quanto à dependência nutricional.

4.4. Interface de contato hemiparasita-hospedeira

A região do sistema vascular a que a hemiparasita se liga é importante para compreensão do seu requerimento nutricional (Nickrent 2002) e para subsidiar o entendimento dos mecanismos usados na condução de água e nutrientes da hospedeira à parasita (Hibberd e Jeschke 2001; Mathiasen et al. 2008). Em *P. ovata*, essa conexão é feita por células parenquimáticas e células sugadoras.

As células sugadoras da hemiparasita estudada apresentam amadurecimento gradual, o que também foi reportado por Rizzini (1951) que as denominou de “sugadores” ao estudar o parasitismo de *Struthanthus marginatus* Blume crescendo em monocotiledôneas. Semelhante ao descrito por esse autor, as células sugadoras de *P. ovata* são células longas com citoplasma denso e núcleo grande quando já ocorreu a penetração do tecido xilemático da hospedeira e estão desenvolvidas. Citoplasma denso e núcleo grande são indicativos que essas células estão ativas metabolicamente (Lee 2007). Esse núcleo proeminente ocorre em todas as células da interface de contato de *P. ovata*, aspecto também ocorrente em *I. micranthus* (Condon e Kuijt 1994) e em *Nuytsia floribunda* R. Br. (Calladine e Pate 2000).

A forma alongada, como em paliçada, de algumas das células da interface de contato de *P. ovata* é similar às células de outras lorantáceas (Rizzini 1951; Condon e Kuijt 1994; Calladine e Pate 2000) e se assemelha inclusive às presentes em hemiparasitas de raiz de Scrophulariaceae (Elias et al. 2001; Heide-Jørgensen e Kuijt 1993). Outra característica apresentada por essas células é o espessamento de parede quando já diferenciadas. Esse já foi relatado em células de interface de outras espécies de hemiparasitas (Smith e Gledhill 1983; Calladine e Pate 2000; Condon e Kuijt 1994; Elias et al. 2001) e ele pode aumentar a rigidez da célula parasita, permitindo resistir à pressão hidrostática sem colapsar, favorecendo o transporte entre hospedeira e parasita.

As células sugadoras de *P. ovata* estão em contato direto com os elementos de vaso do tecido xilemático secundário da hospedeira, como salientado por Rizzini (1951) e Venturelli (1980) em espécies de *Struthanthus* Mart. A invasão dos elementos de vaso do tecido xilemático da hospedeira, conforme foi visto em *P. ovata*, foi citado em hemiparasitas aéreas e de raiz (Kuijt 1969; Kuijt 1977; Calladine e Pate 2000).

Thoday (1961) destacou a ocorrência de células de interface similares nos gêneros neotropicais *Phthirusa*, *Struthanthus* e também no gênero monotípico da Nova Zelândia *Ileostylus micranthus*. Esse autor descreveu que as espécies *P. pyrifolia*, *P. theobromae* (Willd.) Eichler, *P. seitizii* Krug & Urb e *P. adunca* (G. Mey.) Maguire (as três últimas, atuais sinônimos de *Phthirusa stelis* (L.) Kuijt) apresentam células de interface que penetram no xilema secundário das hospedeiras. A ausência de detalhes nesse trabalho tornou o conhecimento dessas estruturas impreciso.

Em pesquisas posteriores, essas células não foram observadas em *I. micranthus* (Condon e Kuijt 1994), mas foram descritas em *Struthanthus*, como células sugadoras (Venturelli 1980) e em *Phthirusa* (esse trabalho), o que pode indicar que elas ocorrem apenas nesses dois gêneros neotropicais. Outros membros da família Loranthaceae (Calladine e Pate 2000), Scrophulariaceae (Kuijt 1977) e Santalaceae (Toth e Kuijt 1976; Tennakoon et al. 1997) também possuem células alongadas e diferenciadas na interface de contato parasita-hospedeira (Kuijt 1969), embora distintas das células aqui encontradas.

As células sugadoras observadas no parênquima radial do xilema hospedeiro tornam-no hipertrofiado, como visto por Venturelli (1980) em haustório primário de *S. vulgaris*. Porém, essa autora não observou a divisão periclinal dessas células sugadoras no parênquima radial como encontrado em *P. ovata*. Kuijt (1964a) relatou em sua revisão que necrose e hipertrofia são respostas comuns ao parasitismo de hemiparasitas aéreas, embora reforce que hipertrofias graves ocorrem em combinações raras de hospedeira-parasita.

As células sugadoras de *P. ovata* parecem ser importantes para a condução de água e nutrientes devido à crescente diferenciação e quantidade de elementos traqueais naquela região endofítica. Porém, é necessário reiterar que a maior parte da interface de contato é composta por células parenquimáticas comuns, como ocorre em Viscaceae (Calvin e Wilson 1995; Fineran e Calvin 2000) e que não foi visto contato direto entre elementos de vaso da hemiparasita e da hospedeira, semelhante ao descrito em outras lorantáceas (Venturelli 1980; Calladine e Pate 2000). Apesar do conhecimento dos componentes celulares da interface de contato de *P. ovata* não foi possível indicar qual rota é usada nessa espécie para o transporte de solutos, ao passo que outras análises são necessárias para evidenciar isso (Coetzee e Fineran 1987).

Na região de interface parasita-hospedeira, a presença de substância escura semelhante à observada nesse estudo, também foi citada por Rizzini (1951) na espécie *S. marginatus* e por Menzies (1954 *apud* Condon e Kuijt 1994) em *I. micranthus*. O primeiro autor afirma que essa substância pode favorecer a absorção de solutos pelas células sugadoras junto aos elementos de vaso da hospedeira, já o último sugere que a substância parece impedir a condução luminal nessas regiões. Em vista dessas considerações antagônicas, mais detalhes em futuras observações dessa substância são necessárias para a concepção de sua real função no transporte de solutos entre hospedeiras e parasitas.

4.5. Resposta da hospedeira Dalbergia miscolobium Benth. ao parasitismo

Segundo Kuijt (1965), o tecido xilemático hospedeiro frequentemente responde à presença de haustórios por uma excessiva produção de taninos, pela extrusão de substâncias como resinas dentro dos elementos traqueais ou pela formação de tiloses. Nesse estudo, a hospedeira *D. miscolobium* apresentou maior quantidade de tilos na região de contato com a parasita *P. ovata*. Além disso, células com substâncias fenólicas foram encontradas na região parasitada. Resposta similar foi encontrada num genótipo resistente de *Helianthus annuus* L. parasitada por *Orobanche cumana* Wallr. (Echevarría-Zomeño et al. 2006) e em três espécies de *Mimosa* parasitadas por *Pilostyles ulei* Solms (Amaral e Ceccantini 2011).

As respostas observadas no parênquima radial, axial e elementos de vaso do xilema secundário de *D. miscolobium*, em uma zona próxima à interface de contato, reforçam a ideia de que as plantas que estão em processo de parasitismo tentam se proteger por processos mecânicos e químicos (Cameron et al. 2006). Desse modo, os tilos representam proteção mecânica ao parasitismo e os compostos fenólicos, proteção química. Nesse estudo, tilos foram encontrados apenas nos elementos de vaso da hospedeira, diferente do encontrado por Calvin (1997) em que o surgimento de tilos ocorreu na espécie hospedeira *Juglan californica* var. *hindsii* Jepson e também na parasita *Phoradendron macrophyllum* (Engelm.).

Kuijt (1965) sugeriu que “a formação de tiloses e a deposição de materiais não identificados de coloração escura em raízes e ramos atacados estabelece para ambos fenômenos como respostas patológicas”. Tal resposta é irreversível e impede o transporte de água pelos elementos condutores contíguos ainda ativos (Costa et al. 2006). Como esse processo ocorre apenas nos elementos de vaso, supomos que água, nutrientes e outros compostos presentes na seiva xilemática são absorvidos pela hemiparasita por meio dos parênquimas radial e axial, o que é reiterado pela presença das células sugadoras nos elementos de vaso e no parênquima radial.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos em *P. ovata* indicam que lenticelas e fissuras na casca da hospedeira facilitam a penetração por haustórios secundários de hemiparasitas. A característica da casca no estabelecimento de hemiparasitas já havia sido relatada para haustórios primários (Arruda et al. 2006). Contudo, este é o primeiro relato de penetração pelas lenticelas da casca hospedeira. Modificações morfológicas nas células que fazem contato com a hospedeira e possível pressão mecânica, parecem ter contribuição para o sucesso do processo de penetração.

Estruturalmente, o haustório da espécie estudada se assemelha com de outras espécies já estudadas tanto jovens quanto maduros. Após diferenciação e desenvolvimento destacam-se os aglomerados de esclereídes contendo cristais (e células cristarque nos esclereídes periféricos) e parênquima contendo cristais prismáticos em todo o corpo endofítico. Essas estruturas são pouco reportadas em outros trabalhos de hemiparasitas aéreas e podem ser usadas como caracteres taxonômicos, além de estarem funcionalmente associadas à sustentação, proteção e depósito de cálcio no endófito.

A interface de contato de *P. ovata* possui algumas células parenquimáticas alongadas, de parede espessada e bem evidentes que penetram no tecido xilemático de sua hospedeira, as células sugadoras. Elas são similares às células de interface descritas no gênero *Struthanthus* (Rizzini 1951; Venturelli 1980), assim como outras características estruturais de *P. ovata* compartilhadas com esse gênero. As células sugadoras são bem evidentes. A estrutura em haustórios jovens e em estágio mais

avançado de diferenciação tecidual reiteram que a constituição da interface de contato é dada apenas por células parenquimáticas da hemiparasita com o xilema secundário da hospedeira, sem conexão xilema-xilema. Esses dados agregam implicações nutricionais, mas não é possível caracterizar as rotas de transporte de *P. ovata*, sendo necessárias outras análises. Apesar da hospedeira *D. miscolobium* ter apresentado mecanismos de resistência ao parasitismo, como tiloses e compostos fenólicos, a hemiparasita prosseguiu com sucesso o desenvolvimento de seu haustório secundário mesmo perante tais barreiras.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS²

- Amaral MM, G Ceccantini 2011 The endoparasite *Pilostyles ulei* (Apodanthaceae – Cucurbitales) influences wood structure in three host species of *Mimosa*. IAWA J 32:1–13.
- Arruda R, LN Carvalho, K Del-Claro 2006 Host specificity of a Brazilian mistletoe, *Struthanthus* aff. *polyanthus* (Loranthaceae), in Cerrado tropical savanna. Flora 201:127–134.
- Ashworth VETM, G Santos 1997 Wood anatomy of four californian mistletoe species (*Phoradendron*, Viscaceae). IAWA J 18:229–245.
- Bozzola JJ, LD Russell 1992 Electron microscopy: principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett Publishers, Boston.
- Caires CS, MA Uchôa-Fernandes, J Nicácio, PC Strikis 2009 Frugivoria de larvas de *Neosilba* McAlpine (Diptera, Lonchaeidae) sobre *Psittacanthus plagiophyllus* Eichler (Santalales, Loranthaceae) no sudoeste de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev bras Entomol 53:272–277.
- Calladine A, JS Pate 2000 Haustorial structure and functioning of the root hemiparasitic tree *Nuytsia floribunda* (Labill.) R. Br. and water relationships with its hosts. Ann Bot 85:723–731.

² As referências foram apresentadas no texto e nesta seção, além das figuras ao longo do texto, seguindo as normas da revista *International Journal of Plant Science*, a qual se pretende submeter esse trabalho.

- Calvin CL, CA Wilson 1995 Relationship of the mistletoe *Phoradendron macrophyllum* (Viscaceae) to the wood of its host. IAWA J 16:33–45.
- Calvin CL, CA Wilson 2006 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.
- Calvin CL 1967 Anatomy of the endophytic system of the mistletoe, *Phoradendron flavescens*. Bot Gaz 128:117–137.
- Calvin CL 1970 Anatomy of the aerial epidermis of the mistletoe, *Phoradendron flavescens*. Bot Gaz 131:62–74.
- 1997 Host-formed tyloses in vessels of the mistletoe *Phoradendron* (Viscaceae). IAWA J 18:117–126.
- Cameron DD, AM Coats, WE Seel 2006 Differential resistance among host and non-host species underlies the variable success of the hemi-parasitic plant *Rhinanthus minor*. Ann Bot 98:1289–1299.
- Cazetta E, M Galetti 2007 Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-de-passarinho *Phoradendron rubrum* (L.) Griseb. (Viscaceae). Rev bras Bot 30:345–351.
- Chamberlain CJ 1932 Methods in plant histology. 5^a ed. The University of Chicago Press, Chicago.
- Chiu S-T 2005 The hyperparasitism by *Taxillus tsaii* S. T. Chiu (Loranthaceae). Coll and Res 18:51–63.
- Coetzee J, BA Fineran 1987 The apoplastic continuum, nutrient absorption and plasmotubules in the dwarf mistletoe *Korthalsella lindsayii* (Viscaceae). Protoplasma 136:145–153.
- Condon J, J Kuijt 1994 Anatomy and ultrastructure of the primary endophyte of *Ileostylus micranthus* (Loranthaceae). Int J Plant Sci 155:350–364.
- Costa CG, CH Callado, VTR Coradin, SM Carmello-Guerreiro 2006 Xilema. Pages 129–154 in B Apezatto-da-Gloria, SM Carmello-Guerreiro, eds. Anatomia Vegetal. 2^a Ed, UFV, Viçosa.
- Dettke GA, MA Milaneze-Gutierrez 2009 Morfoanatomia caulinar de seis espécies de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae). RBN 6:25–34.
- Devkota MP, G Glatzel 2007 Comparative haustorium morphology and vegetative reproduction in the Old World genus *Scurrula* L. (Loranthaceae) from the Central Nepal Himalayas. Flora 202:179–193.

- Dobbins RD, J Kuijt 1974 (a) Anatomy and fine structure of the mistletoe haustorium (*Phthirusa pyrifolia*). I. Development of the young haustorium. *Am J Bot* 61:535–543.
- (b) Anatomy and fine structure of the mistletoe haustorium (*Phthirusa pyrifolia*). II. Penetration attempts and formation of the gland. *Am J Bot* 61:544–550.
- Echevarría-Zomeño S, A Pérez-de-Luque, J Jorrín, AM Maldonado 2006 Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanche cumania*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies. *J Exp Bot* 57:4189–4200.
- Elias SI, VC Souza, B Appezzato-da-Glória 2001 Anatomical confirmation of root parasitism in brazilian *Agalinis* raf. species (Scrophulariaceae). *Braz archives biol technol* 44:303–311.
- Fineran BA, CL Calvin 2000 Transfer cells and flange cells in sinkers of the mistletoe *Phoradendron macrophyllum* (Viscaceae), and their novel combination. *Protoplasma* 211:76–93.
- Gabe M 1968 *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris.
- Galigher AE, EN Kozloff 1964 *Essentials of practical microtechnique*. Lea e Febiger, Philadelphia.
- Heide-Jørgensen HS, J Kuijt 1993 Epidermal derivatives as xylem elements and transfer cells: a study of the host-parasite interface in two species of *Triphysaria* (Scrophulariaceae). *Protoplasma* 174:173–183.
- Hibberd JM, WD Jeschke 2001 Solute flux into parasitic plants. *J Exp Bot* 52:2043–2049.
- Hood ME, JM Condon, MP Timko, JL Riopel 1998 Primary haustorial development of *Striga asiatica* on host and nonhost species. *Phytopathol* 88:70–75.
- Jensen WA 1962 *Botanical histochemistry (principles and practice)*. WH Freeman and Company, San Francisco.
- Johansen DA 1940 *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- Kraus JE, M Arduin 1997 *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro.
- Kuijt J, D Lye 2005(a) A preliminary survey of foliar sclerenchyma in neotropical Loranthaceae. *Blumea* 50:323–355.
- (b) Gross xylem structure of the interface of *Psittacanthus ramiflorus* (Loranthaceae) with its hosts and with a hyperparasite. *Bot J Linn Soc* 147:197–201.
- Kuijt J 1964 (a) Critical observation on the parasitism of New World mistletoes. *Can J Bot* 42:1243–1278.

- (b) The anatomy of haustoria and related organs of *Gaiadendron* (Loranthaceae). *Can J Bot* 43:687–694.
- Kuijt J 1965 On the nature and action of the Santalean haustorium, as exemplified by *Phthirusa* and *Antidaphne* (Loranthaceae). *Acta Bot Neerl* 14:278–307.
- 1969 *The Biology of Parasitic Flowering Plants*. University of California Press, Berkeley.
- 1971 Notes on the seedling and early primary haustorium of *Struthanthus quercicola* (Loranthaceae). *Acta Bot Neerl* 20:467–474.
- 1977 Haustoria of phanerogamic parasites. *Annu Rev Phytopathol* 17:91–118.
- Lee KB 2007 Structure and development of the upper haustorium in the parasitic flowering plant *Cuscuta japonica* (Convolvulaceae). *Am J Bot* 94:737–745.
- Mathiasen RL, DL Nickrent, DC Shaw, DM Watson 2008 Mistletoes: pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Dis* 92:988–1006.
- Mazzoni-Viveiros SC, CG Costa 2006 *Periderme*. Pages 237-264 in B Apezatto-da-Gloria, SM Carmello-Guerreiro, eds. *Anatomia vegetal*. 2ª Ed. UFV, Viçosa.
- Metcalf CR, L Chalk 1950 *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf CR, L Chalk 1979 Loranthaceae. Pages 1188–1194 in CR Metcalfe, L Chalk, eds. *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- Nickrent DL, RJ Duff, AE Colwell, AD Wolfe, ND Young, KE Steiner, CW de Pamphilis 1998 Molecular Phylogenetic and Evolutionary Studies of Parasitic Plants. Pages 211–241 in D Soltis, P Soltis, J Doyle, eds. *Molecular Systematics of Plants*. Vol 2. DNA Sequencing. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Nickrent DL 2002 Parasitic plants of the world. Pages 7–27 in Lopez-Saez JA, P Catalan, L Saez, eds. *Parasitic Plants of the Iberian Peninsula and Balearic Islands*. Mundi-Prensa Libros, S.A., Madrid.
- O'Brien TP, N Feder, ME McCully 1965 Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368–373.
- Paiva JGA, SM Fank-de-Carvalho, MP Magalhães, D Graciano-Ribeiro 2006 Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta bot bras* 20:257–264.
- Pate JS 2001 Haustoria in action: case studies of nitrogen acquisition by woody xylem-tapping hemiparasites from their hosts. *Protoplasma* 215:204–217.
- Rao LN 1942 Parasitism in the Santalaceae. *Ann Bot* 6:131–150.

- Riopel J, L Musselman 1979 Experimental initiation of haustoria in *Agalinis purpurea*. *Am J Bot* 66:570–575.
- Rizzini CT 1951 O parasitismo de “Loranthaceae” sobre monocotiledôneos. *Rev Bras Biol* 11:289–302.
- Rupp P 1964 Polyglykol als Einbettungsmedium zum Schneiden botanischer Präparate. *Mikrokosmos* 53:123–128.
- Salatino A, JE Kraus, MLF Salatino 1993 Contents of tannins and their histological localization in young and adult parts of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). *Ann Bot* 72:409–414.
- Sargent S 1995 Seed fate in a tropical mistletoe: the importance of host twig size. *Funct Ecol* 9:197–204.
- Smith PL, D Gledhill 1983 Anatomy of the endophyte of *Viscum album* L. (Loranthaceae). *Bot J Linn Soc* 87:29–53.
- Stewart GR, MC Press 1990 The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annu Rev Plant Phys* 41:127–151.
- Tennakoon KU, JS Pate, D Arthur 1997 Ecophysiological aspects of the woody root hemiparasite *Santalum acuminatum* (R. Br.) A. DC and its common hosts in South Western Australia. *Ann Bot* 80:245–256.
- Thoday D 1951 The haustorial system of *Viscum album*. *J Exp Bot* 2:1–19.
- 1961 Modes of union and interaction between parasite and host in the Loranthaceae. VI. A general survey of the Loranthoideae. *Proc Roy Soc Lond B Biol Sci* 155:1–25.
- Toth R, J Kuijt 1976 Anatomy and ultrastructure of the haustorium in *Comandra* (Santalaceae). *Can J Bot* 55:455–469.
- Venturelli M 1980 Desenvolvimento anatômico do haustório primário de *Struthanthus vulgaris* Mart. *Bol Bot Univ São Paulo* 8:47–64.
- Wilson CA, CL Calvin 1996 Anatomy of the dwarf mistletoe shoot system. Page 95–112 in Hawksworth FG, Wiens D, Nisley RG. *Dwarf Mistletoes: Biology, Pathology and Systematics*. United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington.
- Wilson CA, CL Calvin 2003 Development, taxonomic significance and ecological role of the cuticular epithelium in the Santalales. *IAWA J* 24:129–138.
- Wilson K, JN Honey 1966 Root contraction in *Hyacinthus orientalis*. *Ann Bot* 30:47–61.

Yan Z 1993 Resistance to haustorial development of two mistletoes, *Amyema preissi* (Miq.) Tieghem and *Lysiana exocarpi* (Behr.) Tieghem ssp. *exocarpi* (Loranthaceae), on host and nonhost species. Int J Plant Sci 154:386–394.

CAPÍTULO 2

Respostas fisiológicas da hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler em hospedeira fixadora e não-fixadora de nitrogênio e implicações do parasitismo

1. INTRODUÇÃO

Hemiparasitas aéreas são plantas encontradas em diversos habitats, crescem em galhos de árvores e arbustos e dependem inteiramente dessas para adquirir nutrientes minerais, água e nitrogênio (Bell e Adams, 2011). Para obter esses recursos e atender seus requerimentos nutricionais, plantas hemiparasitas se conectam ao xilema da planta hospedeira por meio do haustório, órgão semelhante às raízes (Rizzini, 1951). Geralmente mantêm taxas transpiratórias superiores a de suas hospedeiras (Glatzel, 1983; Ullman *et al.*, 1985; Schulze *et al.*, 1991), tolerando potenciais hídricos mais negativos que de suas hospedeiras. Muitos estudos (Tennakoon *et al.*, 1997; Radomiljac *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2007) têm mostrado que além desses recursos, muitas hemiparasitas obtêm parte, ou a maioria, dos seus requerimentos de carbono (C) e nitrogênio (N) como compostos orgânicos (ex. aminoácidos) dissolvidos na seiva xilemática da hospedeira.

Como as folhas da hemiparasita e hospedeira compartilham a mesma seiva xilemática, as concentrações dos nutrientes em hemiparasitas aéreas podem estar altamente correlacionadas com a concentração dos mesmos nas hospedeiras (Glatzel e Geils, 2009). Além disso, como o transporte de nutrientes para a parte aérea das plantas é dependente da transpiração, alguns autores têm sugerido que hemiparasitas podem regular o uso da água para evitar deficiência em N (Ehleringer *et al.*, 1985; Schulze *et al.*, 1991; Wang *et al.*, 2007). O N foi sugerido ser o nutriente mais limitante para o desenvolvimento de hemiparasitas (Schulze *et al.*, 1984) e também é considerado o nutriente mais limitante na maioria dos ecossistemas terrestres (LeBauer e Treseder, 2008). A significância desse nutriente se deve ao fato da produtividade fotossintética estar geralmente relacionada à disponibilidade de N (Evans, 1983; Epstein e Bloom, 2006). O N é constituinte de um grande número de importantes compostos. No aparato fotossintético, ele faz parte dos pigmentos e enzimas, como clorofila e Rubisco; além disso, compõe vários compostos envolvidos na dissipação de energia, como as xantofilas (Demming-Adams e Adams, 1992; Pompelli *et al.*, 2010). Assim, a absorção desse substrato (N) e síntese desses compostos nitrogenados é considerada limitante ao crescimento e desenvolvimento vegetal (Ramalho *et al.*, 2000).

Hemiparasitas de raiz e aéreas podem preferir ou mesmo apresentar melhor desempenho quando crescendo em hospedeiras com elevado conteúdo de N, como em

espécies da família Leguminosae que tenham associação com bactérias fixadoras de N (Seel e Press, 1993; Radomiljac *et al.*, 1999; Bowie e Ward, 2004). Em hospedeiras com menores conteúdos de N, Schulze *et al.* (1984) sugerem que hemiparasitas podem ter um uso menos conservativo da água para suprir seus requerimentos em N. Isso se baseia na hipótese que as maiores taxas transpiratórias da hemiparasita representam um mecanismo para ampliar a captura passiva de N em hospedeiras com baixas quantidades de N na seiva xilemática. Assim, o N seria um fator chave na regulação da transferência de solutos da hospedeira para a parasita (Stewart e Press, 1990).

Essas respostas metabólicas na relação parasita-hospedeira são complexas. Além da disponibilidade de N, outros fatores também podem afetar o desempenho das hemiparasitas, como características de trocas gasosas das hospedeiras e da própria hemiparasita (Givnish, 1986 *apud* Marshall *et al.*, 1994; Strong *et al.*, 2000; Mathiasen *et al.*, 2008), disponibilidade hídrica (Ehleringer *et al.*, 1986), temperatura e irradiância (Lüttge *et al.*, 1998). Com o intuito de averiguar a influência do ambiente em hemiparasitas e suas hospedeiras, Lüttge *et al.* (1998) investigaram a capacidade fotossintética de hemiparasitas no Cerrado comparando com a de suas hospedeiras em três fisionomias que diferiam quanto a exposição luminosa (campo rupestre – muito exposto, cerrado – semi exposta, e mata de galeria – sombreada) e também analisaram a capacidade fotossintética da hemiparasita em hospedeiras acumuladoras e não-acumuladoras de alumínio (Al). Exceto no ambiente amplamente exposto ao sol, hemiparasitas apresentaram capacidade fotossintética semelhante à de suas hospedeiras. Além disso, o desempenho fotossintético das hemiparasitas não diferiu em hospedeiras acumuladoras e não-acumuladoras de Al.

Scalon (2010) comparou hemiparasitas em hospedeiras acumuladoras e não-acumuladoras de Al no Cerrado quanto às respostas fisiológicas. A hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler em duas hospedeiras distintas (uma acumuladora e outra não-acumuladora de Al) apresentou diferenças quanto às concentrações foliares de Al, cálcio (Ca), magnésio (Mg) e densidade estomática. Segundo a autora, essas variações podem estar relacionadas às características intrínsecas das duas hospedeiras, como diferentes padrões fenológicos (uma é sempre-verde e a outra brevidecídua), particularidades do metabolismo, entre outros. Ela também analisou as implicações do

parasitismo comparando indivíduos parasitados e não-parasitados e relatou que, de uma maneira geral, a presença da hemiparasita não afetou o desempenho da hospedeira.

Como a hemiparasita extrai recursos de sua hospedeira, o efeito do parasitismo, estudado por Scalon (2010), é um importante aspecto da associação parasita-hospedeira. Embora hemiparasitas aéreas sejam menos danosas às hospedeiras que holoparasitas, elas podem afetar o balanço hídrico, nutricional, de trocas gasosas de suas hospedeiras, além de outros efeitos deletérios, como os relatados por Mourão *et al.* (2009) e Cuevas-Reyes *et al.* (2011) no campo rupestre do Cerrado que encontraram respectivamente redução na taxa de sobrevivência e fecundidade e aumento na assimetria foliar. Contudo, as implicações da infestação por hemiparasitas aéreas podem variar de nenhum sinal aparente a graves efeitos em suas hospedeiras (Stewart e Press, 1990). Fatores como grau de especificidade da hemiparasita, composição da associação (espécies) e intensidade da infestação (número de parasitas por indivíduo hospedeiro) podem ser fatores que expliquem essas diferentes respostas das hospedeiras (Cuevas-Reyes *et al.*, 2011).

Claramente, pesquisas de cunho fisiológico são necessárias para elucidar o impacto da condição (nutricional, hídrica e/ou produtividade fotossintética) da hospedeira nas respostas da planta parasita e vice-versa (Bell e Adams, 2011). O estudo dessas relações parasita-hospedeira se torna mais interessante em um ambiente como o Cerrado em que as altas taxas de irradiância, unidas à sazonalidade das chuvas e à alta demanda evaporativa, torna muito importante um ajuste adequado entre processos assimilatórios e não assimilatórios visto a forte depressão da condutância estomática nos períodos de maior irradiância e de maior demanda evaporativa da atmosfera (Franco e Lüttge, 2002; Franco *et al.*, 2007), o que pode limitar a obtenção de recursos pela hemiparasita via transpiração foliar. Assim, a disponibilidade de nutrientes nas hospedeiras, especialmente do N, pode ser determinante para o sucesso da hemiparasita perante as condições ambientais do Cerrado.

Esse estudo teve como objetivo avaliar as respostas fisiológicas da hemiparasita *P. ovata* crescendo em uma hospedeira leguminosa fixadora de N (*Dalbergia miscolobium* Benth.), com maior disponibilidade desse recurso em relação à hospedeira não-fixadora de N (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. ex Juss.- Malpighiaceae). Além disso, avaliar o efeito do parasitismo nas respostas fisiológicas dessas hospedeiras,

comparando indivíduos parasitados e não-parasitados por *P. ovata*. Os seguintes parâmetros fisiológicos foram analisados: nutrientes foliares, balanço hídrico, teores de pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas, capacidade fotossintética e uso da energia fotossintética em processos fotoquímicos e não-fotoquímicos.

2. HIPÓTESES

Phthirusa ovata terá maiores concentrações foliares de N, de clorofila, taxas fotossintéticas, capacidade fotossintética, rendimento quântico e também menores taxas de fotoinibição quando crescendo sobre *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae), hospedeira leguminosa com associação simbiótica com bactéria fixadora de N₂ (Cordeiro, 2000), em detrimento ao crescimento sobre *Byrsonima verbascifolia* (Malpighiaceae), hospedeira não-fixadora, evidenciando a resposta positiva a maiores concentrações de N na fisiologia da planta parasita.

A presença da hemiparasita *P. ovata* irá afetar negativamente a capacidade fotossintética, trocas gasosas, balanço nutricional e hídrico das hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia*, em relação aos indivíduos não-parasitados das mesmas espécies, devido a competição pelos recursos (água, nutrientes, compostos orgânicos e também luz) dessas hospedeiras com a hemiparasita.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo e amostragem de indivíduos

O estudo foi realizado na Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), localizada a 35 km ao sul de Brasília-DF (15° 56' 41" S e 47° 53' 07" W). Esta reserva é integrante da Área de Proteção Ambiental (APA) Distrital Gama-Cabeça de Veado e cobre um total de 10.000 hectares de área contínua protegida. A altitude média é de 1.100 m. O clima é tipicamente sazonal, com duas estações bem definidas: uma chuvosa e outra seca. A chuvosa

começa em setembro ou outubro e se prolonga até abril ou maio. Durante a estação seca geralmente chove menos de 5 mm por mês.

No ano do estudo, 2011, a precipitação média anual foi de 1.386 mm, com valores nulos nos meses de junho, julho, agosto e, próximo a nulo, em setembro. A umidade relativa do ar e taxa de precipitação, tiveram seus menores valores médios também nesses meses (fig. 1A). A temperatura média anual foi de 22,1 °C e os menores valores de insolação ocorreram nos meses chuvosos (fig. 1B).

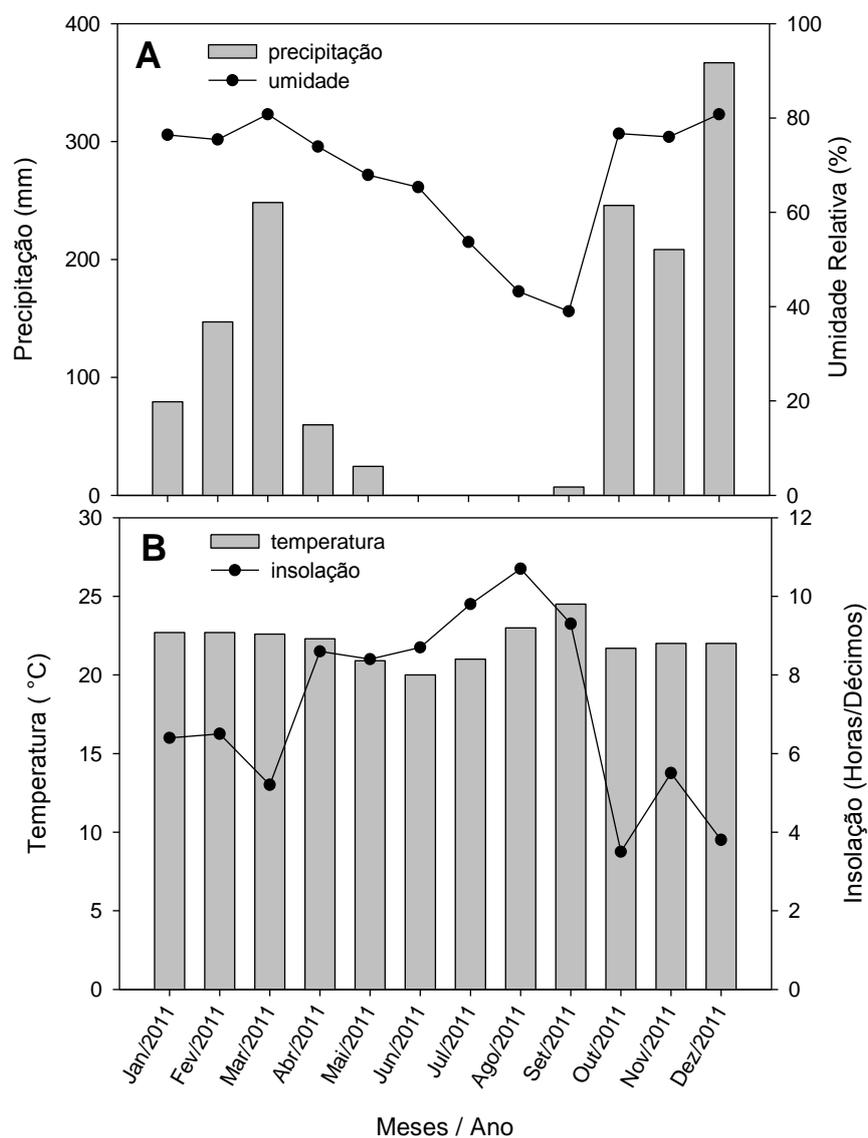


Figura 1. Médias mensais das médias diárias dos dados climáticos da Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE) em 2011. A – precipitação e umidade relativa do ar; B – temperatura e insolação (duração do brilho solar). Dados fornecidos pela estação metereológica da RECOR/IBGE (Fonte: www.recor.org.br).

Na estação chuvosa, foram escolhidos 6 indivíduos adultos de *Dalbergia miscolobium*, sendo 3 deles parasitados com *Phthirusa ovata* e 3 não parasitados, como controle. Na mesma área, também foram selecionados 6 indivíduos adultos de *Byrsonima verbascifolia*, sendo 3 parasitados com *P. ovata* e 3 não parasitados. Na estação seca, procedeu-se a escolha de 10 indivíduos de cada uma das duas espécies, *D. miscolobium* e *B. verbascifolia*, sendo 5 deles parasitados por *P. ovata* e 5 não-parasitados. Esses indivíduos estavam na mesma área e com tamanho semelhante aos da estação anterior, mas distintos àqueles. Devido a impossibilidade de medir todas as plantas no mesmo dia e com o intuito de manter a homogeneidade da coleta dos dados nas duas hospedeiras, as plantas foram distribuídas, para organização temporal da amostragem, em 5 “grupos”. Cada grupo foi assim constituído de 1 indivíduo de *D. miscolobium* não-parasitado, 1 indivíduo de *B. verbascifolia* não-parasitado, 1 indivíduo de *D. miscolobium* parasitado e sua respectiva planta parasita (*P. ovata*) e 1 indivíduo de *B. verbascifolia* parasitado e sua respectiva planta parasita (*P. ovata*), totalizando 6 plantas por grupo. Para cada grupo foi criada uma sequência de amostragem desses indivíduos para o curso diário, alterando essa sequência de um grupo para o outro.

Parâmetros fisiológicos foram medidos no final da estação chuvosa (abril/2011) e no auge da estação seca (julho–agosto/2011) a fim de comparar o efeito de diferentes hospedeiras na fisiologia da hemiparasita aérea *P. ovata* e o efeito do parasitismo nas hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* comparando indivíduos parasitados e não parasitados perante as duas condições sazonais do ambiente. A área de estudo corresponde ao cerrado sentido restrito e está representada na figura 2.

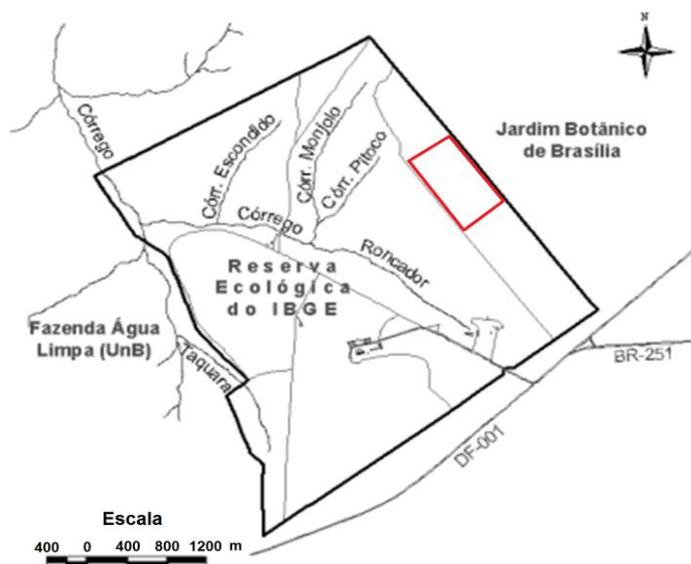


Figura 2. Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE) com área do estudo representada por retângulo. (Fonte: IBGE, 2004).

3.2. Medidas de trocas gasosas e de Fluorescência da clorofila *a*

Foram realizadas medições de trocas gasosas (nas duas estações) e de fluorescência da clorofila *a* (apenas na estação seca) ao longo de um curso diário. Essas foram tomadas em condições de luz, temperatura e umidade do ambiente. As medições foram tomadas a cada 2 horas, com a primeira iniciada às 08h e a última às 16h, com um total de cinco medidas durante o dia.

As taxas de trocas gasosas foram tomadas com uso de um sistema aberto e portátil de medição de trocas gasosas por infravermelho (IRGA, modelo LCI; ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, UK). Os seguintes parâmetros foram mensurados: assimilação líquida de CO₂ (A_{CO2}), condutância estomática (g_s) e transpiração (E). Também foram medidas a temperatura no interior da câmara, a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, temperatura foliar e a concentração de CO₂ atmosférico. Os valores instantâneos da eficiência do uso da água (EUA) foram obtidos dividindo-se A_{CO2} por E e da eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) pela razão A_{CO2} por g_s (Larcher, 2000).

Foram amostradas duas folhas totalmente expandidas e sadias de cada uma das plantas selecionadas. As medidas foram tomadas em triplicata por folha/folíolos, após período de aclimação. Esse foi identificado pela estabilidade na leitura de A_{CO2} e E.

Para indivíduos parasitados, as medidas foram tomadas no ramo parasitado em folhas localizadas acima do ponto de inserção da parasita. Para *D. miscolobium*, dois folíolos da porção central de cada folha foram colocados no interior da câmara do IRGA. Esses folíolos foram desenhados ao final do curso diário e suas áreas obtidas por meio do medidor de área foliar Win-DIASZ (Delta- T Devices, Cambridge, UK). Os parâmetros de trocas gasosas medidos em *D. miscolobium* foram recalculados em função da área dos folíolos que ocupava a câmara do IRGA.

Medições de fluorescência foram realizadas sucessivamente às de trocas gasosas nas mesmas folhas/folíolos utilizando um fluorômetro de amplitude de pulso modulado (PAM 2100, Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemanha). Foram realizadas medidas de fluorescência ao longo do curso diário, além de uma medida 19-20h e outra antes do amanhecer. Além dos valores de fluorescência, mediu-se a temperatura foliar e a densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFF, $\lambda = 400-700\text{nm}$) que cada planta mensurada esteve sujeita.

Às 19-20h e antes do amanhecer, mediu-se a fluorescência mínima (F_0), aplicando-se a luz modulada de baixa intensidade e posteriormente um pulso de luz saturante para se obter a fluorescência máxima (F_m). A tomada dessa última medida foi feita cobrindo a folha contida na câmara com pano escuro para evitar que a luminosidade do pulso saturante incidisse também nas folhas vizinhas. A partir de tais dados calculou-se o rendimento quântico intrínseco do fotossistema II (F_v/F_m), dado por: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (Maxwell e Johnson, 2000).

Ao longo do curso diário, foram medidas a fluorescência das folhas aclimatadas a luz ambiente em estado estável (F_t), a fluorescência máxima da folha aclimatada à luz (F'_m) obtida com a aplicação de um pulso de luz saturante que se sobrepôs a luz vigente e a fluorescência mínima da folha aclimatada à luz (F'_0), após 5 segundos sob incidência de luz vermelho distante e coberta por pano escuro para evitar a incidência de luz. Calculou-se o rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}), como: $\Phi_{\text{PSII}} = (F'_m - F_t)/F'_m$ (Maxwell e Johnson, 2000; Franco *et al.*, 2007). O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (PSII) foi usado para calcular a taxa aparente de transporte de elétrons do PSII (ETR). Considerando-se a partição igualitária da energia de excitação entre os dois fotossistemas, a ETR foi calculada como $\Phi_{\text{PSII}} \times \text{DFF} \times 0,5$, dada em $\mu\text{mol elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

De acordo com Kramer *et al.* (2004) foi calculado a proporção dos centros de reação do fotossistema II abertos (qL), sendo $qL = ((F'_m - F_t) / (F'_m - F'_0)) \cdot (F'_0 / F_t)$, o rendimento quântico da extinção não-fotoquímica (Φ_{NPQ}), relacionado a fotoproteção e definido como: $\Phi_{NPQ} = 1 - \Phi_{PSII} - (1 / (((F_m - F'_m) / F'_m) + 1 + qL \cdot (F_m / F_0 - 1)))$ e o rendimento quântico da extinção associada a outros processos não fotoquímicos (Φ_{NO}) definido como: $\Phi_{NO} = 1 / (((F_m - F'_m) / F'_m) + 1 + qL \cdot (F_m / F_0 - 1))$. A soma dos três parâmetros ($\Phi_{PSII} + \Phi_{NPQ} + \Phi_{NO}$) é igual a 1.

3.3. Potencial hídrico

O potencial hídrico foliar (Ψ_f) foi medido em campo com uso da bomba de pressão de Schölander modelo 1000 (PMS, Corvallis, OR, EUA). As medidas foram realizadas em dois períodos do dia, antes do nascer do sol – entre 5 e 6 h – e ao “meio-dia” – entre 12 e 14h, para obter respectivamente o Ψ_f máximo ($\Psi_{f_{\max}}$) e mínimo ($\Psi_{f_{\min}}$). Ramos de *D. miscolobium* e *P. ovata* e folhas de *B. verbascifolia* nas mesmas plantas e em posições na copa semelhantes às usadas nas medidas de trocas gasosas foram empregadas nas medições. Imediatamente após a coleta, eles foram acondicionados em bolsas plásticas hermeticamente fechadas, mantidos em bolsa térmica contendo gelo até ser aferido o Ψ_f , o que ocorreu assim que todas as amostras foram coletadas, com tempo médio para coleta de todas as amostras de até 20 minutos após o início das coletas.

3.4. Pigmentos fotossintéticos

Para a análise das clorofilas *a* e *b* e carotenóides, dois discos (0,2 cm de diâmetro, retirados com um furador) do limbo foliar de uma folha de cada indivíduo selecionado de *P. ovata* e *B. verbascifolia* foram colocados em eppendorf de cor âmbar contendo 2 mL de DMF (N,Ndimetilformamida-HCON(CH₃)₂). Para *D. miscolobium*, os discos foram retirados do limbo de dois folíolos, evitando-se a nervura central.

Os eppendorfs foram colocados em caixa de isopor contendo gelo e protegidos da luz e transportados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal da UnB, onde o material

foi mantido em geladeira a 4°C por 72h. Decorrido este tempo, o sobrenadante de cada amostra foi lido no espectrofotômetro Genesys 2 (Thermo Spectronic, Rochester, EUA) nos seguintes comprimentos de onda: 663,8 nm, 646,8 nm e 480 nm, para mensurar respectivamente, clorofila *a*, *b* e carotenóides totais. Com esses valores de absorbância foram calculados as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total (*a+b*) e carotenóides, conforme Wellburn (1994). Com base nesses dados, calculou-se a razão entre clorofila total e carotenóides.

3.5. Análise de nutrientes foliares

Folhas usadas nas medidas de potencial hídrico adicionadas de outras folhas (totalmente expandidas e saudáveis e em posições na copa semelhantes às usadas nos demais parâmetros) foram secas em estufa a 70 °C por três dias e trituradas em moinho do tipo Wiley. Seguiu-se análise dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), e dos micronutrientes zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B),

A concentração de N nas folhas foi obtida utilizando o método de digestão e destilação de Kjeldahl (Allen, 1989). Para determinação dos demais nutrientes foi usada digestão foliar nitroperclórica, composta por ácido nítrico (HNO₃) e ácido perclórico (HClO₄). A concentração de P foi medida pelo método colorimétrico, a 410 nm, com uso de vanado-molibdato de amônia. Para K, empregou-se fotometria de chama. Os teores dos demais nutrientes foram obtidos por espectrometria de absorção atômica. Essas análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda (Viçosa, MG).

3.6. Análise estatística

Todos os dados foram analisados com uso do software STATISTICA versão 8.0. A normalidade dos dados foi testada com o teste de Shapiro-Wilk, apropriado para tamanhos amostrais pequenos. A homogeneidade das variâncias foi analisada pelo teste Levene's quando o tamanho amostral dos tratamentos comparados foi igual e o teste

Cochran e Bartlett para amostras com tamanhos desiguais. Dados que não apresentaram normalidade e/ou homogeneidade de variâncias foram transformados utilizando-se logaritmo na base 10. Repetiram-se os testes de normalidade e homogeneidade após a transformação.

Com o intuito de analisar o efeito do tipo de hospedeira (em *P. ovata* nas distintas hospedeiras) ou do parasitismo (entre indivíduos parasitados e não parasitados de *D. miscolobium* e de *B. verbascifolia*), além das estações (chuvosa e seca) e interações entre esses nas respostas fisiológicas, as médias entre hospedeira ou parasitismo e estações foram comparadas por análise de variância (ANOVA) fatorial. Por ANOVA's fatoriais foram analisados os dados de nutrientes, pigmentos fotossintéticos e de potencial hídrico foliar. Sob essa análise, também foram comparadas as concentrações foliares de nutrientes entre indivíduos parasitados de *D. miscolobium* e de *B. verbascifolia*. Para se determinar os efeitos dos tratamentos nos parâmetros medidos nas curvas diárias de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, foram feitas ANOVA's de medidas repetidas no tempo, para o curso diário de cada estação separadamente. Posteriormente a cada ANOVA, foi realizado o teste post-hoc HSD de Tukey, considerando diferenças significativas quando $p < 0,05$. Para testar as relações entre parâmetros, foram feitas regressões lineares simples. Todos os gráficos foram feitos com uso do programa SigmaPlot versão 11.0.

4. RESULTADOS

4.1. Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar máximo ($\Psi_{f_{\text{máx}}}$) de *P. ovata*, segundo análise de variância, não foi influenciado significativamente pela hospedeira, estação e também não houve interação significativa entre esses fatores. Já o $\Psi_{f_{\text{mín}}}$ foi influenciado pelas hospedeiras e pela sazonalidade, mas sem interação significativa (valores de ANOVA estão no Anexo 1A). A hemiparasita crescendo na hospedeira *D. miscolobium* exibiu valores de $\Psi_{f_{\text{mín}}}$ mais negativos em relação à mesma em *B. verbascifolia* (tabela 1). Quanto à sazonalidade do regime hídrico, *P. ovata* apresentou $\Psi_{f_{\text{mín}}}$ mais negativo na estação seca do que na estação chuvosa (tabela 1).

Tabela 1. Potencial hídrico mínimo (MPa) de *P. ovata* nas distintas hospedeiras (*D. miscolobium* e *B. verbascifolia*) e estações (seca e chuvosa), e de indivíduos de *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* parasitados e não-parasitados e nas distintas estações. Diferenças significativas em *P. ovata* nas distintas hospedeiras (letras minúsculas) e em *P. ovata* e *D. miscolobium* nas duas estações (letras maiúsculas) de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). Média (\pm erro-padrão; $n = 8$ para hospedeiras; $n=10$ na estação seca; $n= 6$ na estação chuvosa).

Espécie	Hospedeiras			Estação		
	<i>D. miscolobium</i>	<i>B. verbascifolia</i>	Não-parasitada	Parasitada	Seca	Chuvosa
<i>P. ovata</i>	-2,10 (0,09) a	-1,75 (0,16) b	-	-	-2,12 (0,07) A	-1,67 (0,18) B
<i>D. miscolobium</i>	-	-	-1,46 (0,1)	-1,67 (0,13)	-1,68 (0,08) A	-1,37 (0,15) B
<i>B. verbascifolia</i>	-	-	-1,21 (0,07)	-1,35 (0,07)	-1,32 (0,07)	-1,22 (0,06)

Regressões entre os valores de Ψ_f das hospedeiras e de *P. ovata* foram testadas. Essa foi positiva e significativa para o $\Psi_{f_{\min}}$ na estação chuvosa ($R^2=0,719$; $p < 0,05$) (fig. 3); e não foi significativa para o $\Psi_{f_{\max}}$.

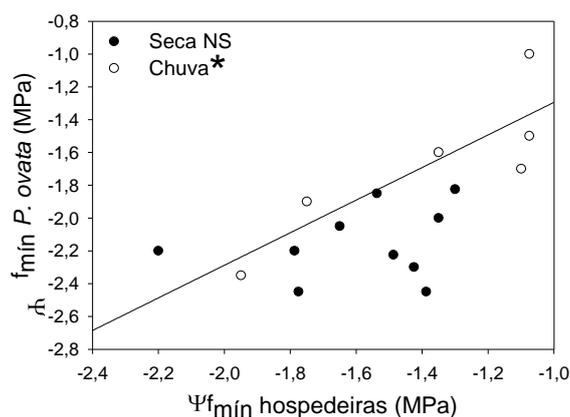


Figura 3. Regressão linear entre o potencial hídrico foliar mínimo ($\Psi_{f_{\min}}$) da hemiparasita *P. ovata* e de suas hospedeiras, para a estação seca (círculos fechados) e estação chuvosa (círculos abertos e linha contínua) ($R^2 = 0,719$; $\Psi_{f_{\min}} P. ovata = -0,300 + (0,994 * \Psi_{f_{\min}} \text{ hospedeiras})$). Regressão com significância de: * $p < 0,05$; NS – não-significante.

Quanto às hospedeiras, as análises de variância não mostraram diferenças em *D. miscolobium* para $\Psi_{f_{\max}}$ e $\Psi_{f_{\min}}$ em decorrência do parasitismo. Contudo, as diferenças sazonais afetaram significativamente o $\Psi_{f_{\min}}$ dessa hospedeira (valores da ANOVA estão no Anexo 1B), com os menores valores ocorrendo na estação seca (tabela 1). Para *B. verbascifolia*, as análises de variância não apontaram diferenças significativas nos

valores de Ψ_f , máximo e mínimo, quanto à presença da parasita, estação (tabela 1) e também não houve interações entre esses.

4.2. Nutrientes foliares

Indivíduos parasitados das hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* foram comparados quanto às concentrações foliares de cada nutriente. A análise de variância revelou diferenças significativas entre essas hospedeiras para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg e para a razão N:P (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 2). *D. miscolobium* apresentou valores mais elevados de N, P (fig. 4) e na razão N:P (*D. miscolobium*: $30,66 \pm 1,35$; *B. verbascifolia*: $21,31 \pm 0,97$; $p < 0,05$) em relação à *B. verbascifolia*. Já para os nutrientes K, Ca e Mg houve uma inversão, com *B. verbascifolia* apresentando valores maiores que *D. miscolobium* (fig. 4).

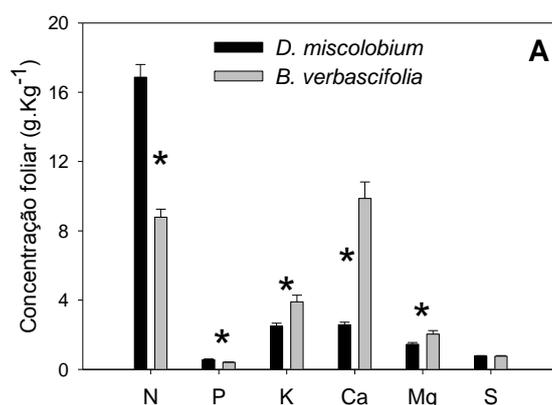


Figura 4. Concentrações foliares de macronutrientes nas hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* parasitadas por *P. ovata*. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n=8$).

Em *P. ovata*, as análises de variância comparando indivíduos da hemiparasita crescendo em *D. miscolobium* e crescendo em *B. verbascifolia*, mostraram diferenças significativas para os macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S e para os micronutrientes Zn e B (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 3). A hemiparasita teve concentrações significativamente maiores de N, P e Zn quando associada a *D. miscolobium* e de K, Ca, Mg, S e B quando em *B. verbascifolia* (fig. 5).

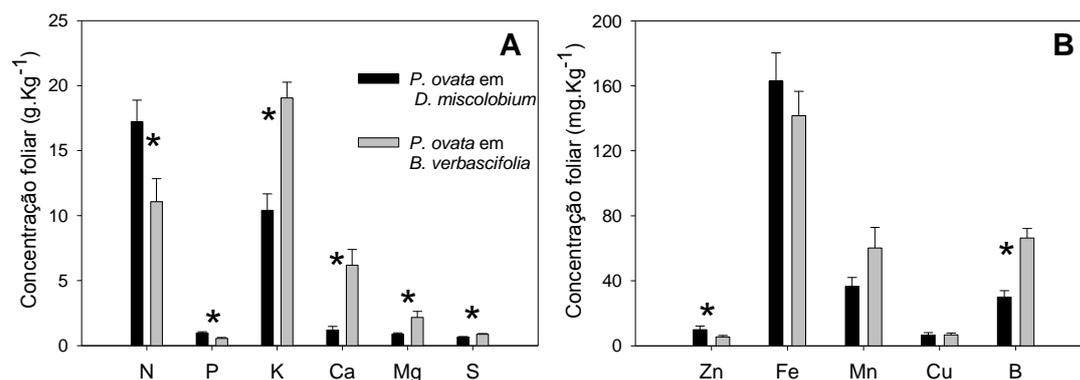


Figura 5. Concentrações foliares de nutrientes de *P. ovata* nas hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia*. A – macronutrientes; B – micronutrientes. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão (n=8).

Entre os nutrientes que diferiram na hemiparasita em função da hospedeira em que a hemiparasita crescia, N, P, K, Ca e Mg também apresentaram diferenças significativas entre indivíduos parasitados das hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* (fig. 4 e 5A). Nota-se que, nesses nutrientes, a hemiparasita refletiu as diferenças nutricionais entre suas hospedeiras associadas. Correlação significativa e positiva na concentração foliar dos nutrientes entre hospedeiras e hemiparasita, em pelo menos uma das estações do ano, foi encontrada para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg e B (fig. 6), mostrando que a concentração desses nutrientes na hemiparasita estudada está diretamente relacionada a concentração dos mesmos nas hospedeiras.

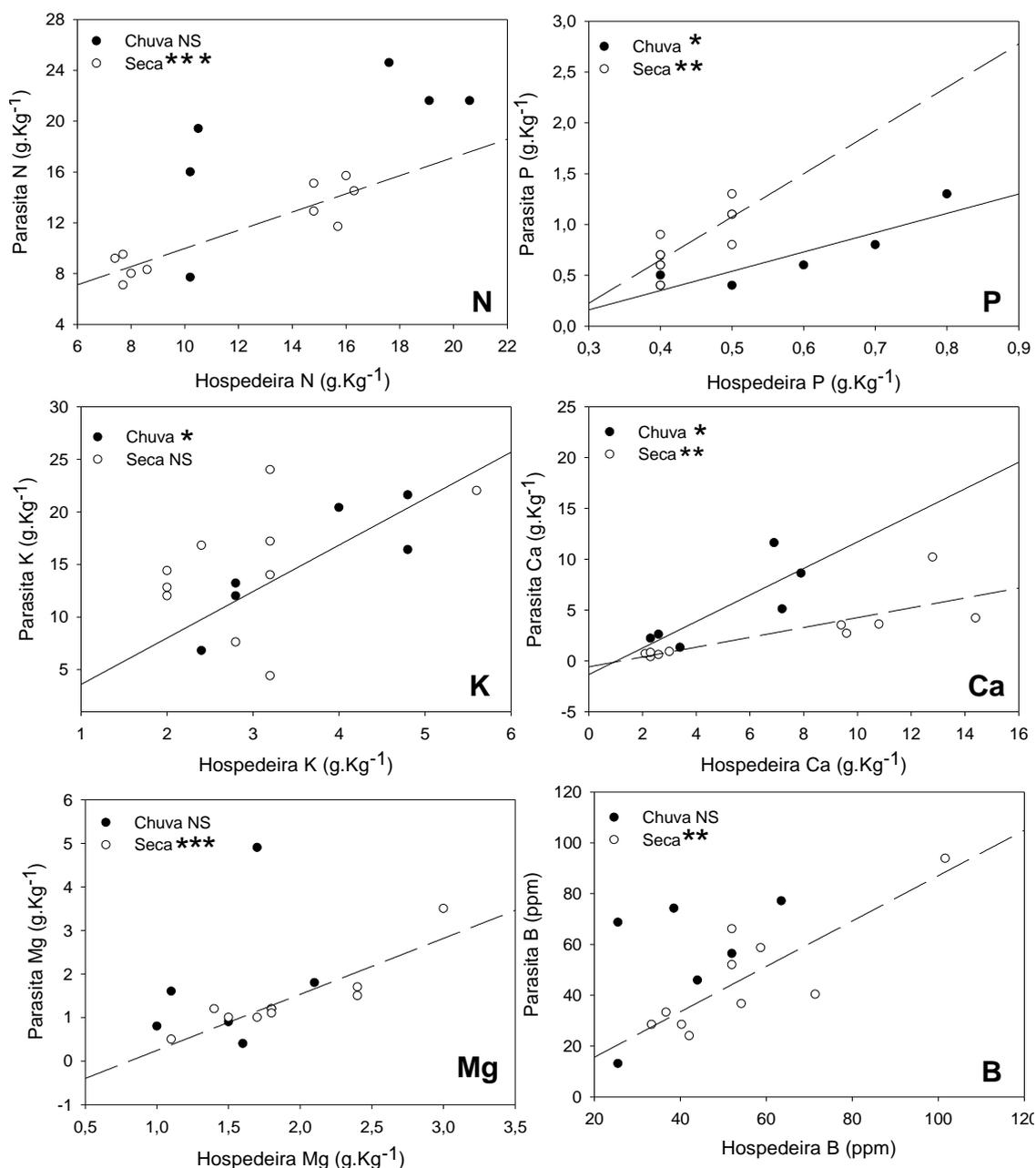


Figura 6. Regressões lineares entre a concentração de nutrientes foliares de *P. ovata* e suas hospedeiras nas estações chuvosa (círculos fechados e linha contínua) e seca (círculos abertos e linha tracejada). Nitrogênio (R^2 seca = 0,83; $N_{P.ovata} = 2,817 + (0,717 * N_{hospedeiras})$), fósforo (R^2 chuva = 0,81; $P_{P.ovata} = -0,410 + (1,900 * P_{hospedeiras})$; R^2 seca = 0,62; $P_{P.ovata} = -1,050 + (4,250 * P_{hospedeiras})$), potássio (R^2 chuva = 0,73; $K_{P.ovata} = -0,833 + (4,417 * K_{hospedeiras})$), cálcio (R^2 chuva = 0,66; $Ca_{P.ovata} = -1,359 + (1,305 * Ca_{hospedeiras})$; R^2 seca = 0,638; $Ca_{P.ovata} = -0,595 + (0,484 * Ca_{hospedeiras})$), magnésio (R^2 seca = 0,809; $Mg_{P.ovata} = -1,041 + (1,286 * Mg_{hospedeiras})$) e boro (R^2 seca = 0,68; $B_{P.ovata} = -2,248 + (0,893 * B_{hospedeiras})$). Regressão com significância de: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS – não-significante.

A estação do ano em que os dados foram coletados também afetou significativamente as concentrações foliares de nutrientes da hemiparasita. A análise estatística revelou que os nutrientes N, Ca, Zn, Fe, Cu e a razão N:P sofreram influência

significativa da estação (os resultados de ANOVA's encontram-se no Anexo 3). Todos esses nutrientes, com exceção do Fe, estavam em concentrações superiores na estação chuvosa (fig. 7), o mesmo ocorreu para a razão N:P (chuva: $30,51 \pm 1,21$; seca: $14,29 \pm 4,74$; $p < 0,05$). Os valores das interações para todos os nutrientes e razão N:P de *P. ovata* não foram significativos.

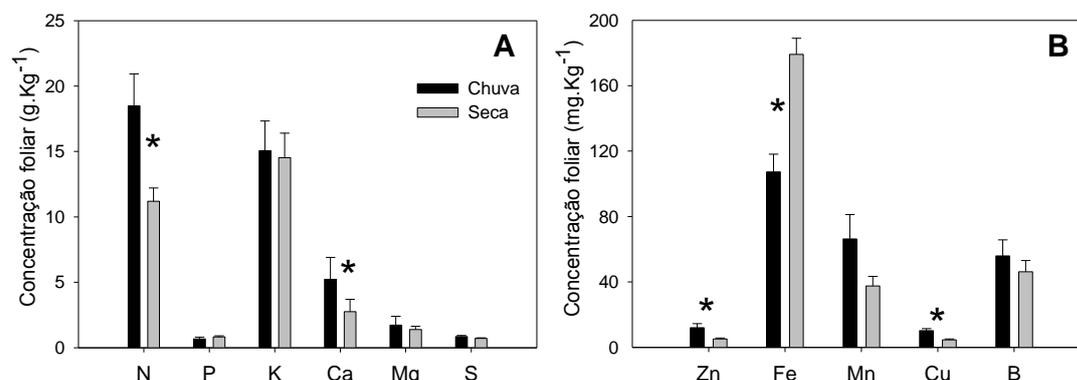


Figura 7. Concentrações foliares de nutrientes de *P. ovata*, independente da hospedeira, nas estações chuvosa e seca. A – macronutrientes; B – micronutrientes. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n = 10$ na estação seca; $n = 6$ na estação chuvosa).

Quanto à comparação entre indivíduos parasitados e não-parasitados das hospedeiras, a presença de *P. ovata* não afetou a hospedeira *D. miscolobium* quanto aos teores foliares dos nutrientes analisados (os resultados das ANOVA's estão no Anexo 4). Na hospedeira *B. verbascifolia* houve influência do parasitismo na concentração foliar de K (os resultados das ANOVA's estão no Anexo 5), com valores significativamente menores desse nutriente em indivíduos parasitados (parasitados: $3,9 \pm 0,38$ g.Kg⁻¹; não-parasitados: $5,2 \pm 0,53$ g.Kg⁻¹; $p < 0,05$) e houve interação significativa entre os efeitos da presença da parasita e estação para os nutrientes N, P e Cu (tabela 2; os resultados das ANOVA's estão no Anexo 5). Para N, indivíduos parasitados e não-parasitados apresentaram seus maiores valores na estação chuvosa. Quanto às concentrações de P, indivíduos não-parasitados da estação chuvosa tiveram concentrações superiores a dos indivíduos parasitados e não-parasitados da estação seca e indivíduos parasitados na estação chuvosa apresentaram teores significativamente maiores que indivíduos não-parasitados da estação seca. Em Cu, indivíduos livres do parasitismo mostraram variação significativa nas concentrações desse nutriente de uma estação para a outra, com os maiores valores na estação chuvosa.

Tabela 2. Interações significativas nas concentrações de nutrientes foliares de *B. verbascifolia* nas estações (chuvosa e seca) e quanto ao parasitismo (não-parasitada e parasitada). Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). Média (\pm erro-padrão) (n=10 na estação seca; n= 6 na estação chuvosa).

Nutriente	Estação seca		Estação chuvosa	
	Não-parasitada	Parasitada	Não-parasitada	Parasitada
N (g.Kg ⁻¹)	7,1 (0,5) a	7,88 (0,2) a	12,86 (1,03) b	10,3 (0,1) b
P (g.Kg ⁻¹)	0,34 (0,02) a	0,4 (0,0) a,c	0,56 (0,03) b, c	0,43 (0,03) c
Cu (mg.Kg ⁻¹)	2,60 (0,24) a, b	3,80 (0,2) a	4,66 (0,66) a, c	3,00 (0,57) a

A estação afetou as concentrações dos nutrientes foliares das duas hospedeiras. Para *D. miscolobium* houve variação nos teores foliares de N, P, Fe, assim como nas razões foliares de N:P (os resultados das ANOVA's estão no Anexo 4) em que as maiores concentrações de N e P foram encontrados na estação chuvosa, enquanto que Fe e razão N:P tiveram valores mais elevados na estação seca (fig. 8). Em *B. verbascifolia*, os nutrientes que tiveram suas concentrações foliares influenciadas pela estação foram N, P, K e Ca (os resultados das ANOVA's estão no Anexo 5) com os maiores valores de N, P e K na estação chuvosa e de Ca na estação seca (fig. 9).

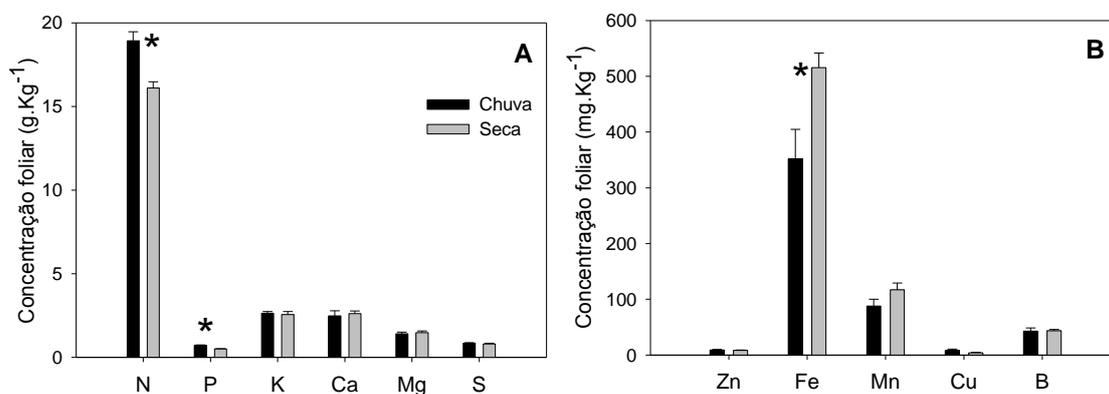


Figura 8. Concentrações foliares de nutrientes em *D. miscolobium*, independente do parasitismo, nas estações chuvosa e seca. A – macronutrientes; B – micronutrientes. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão (n= 10 na estação seca; n= 6 na estação chuvosa).

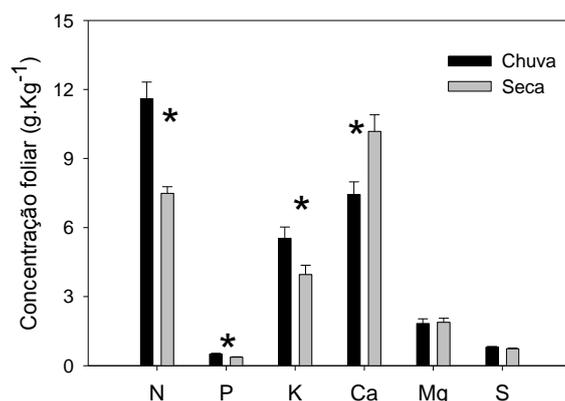


Figura 9. Concentrações foliares de macronutrientes em *B. verbascifolia* nas estações chuvosa e seca. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n = 10$ na estação seca; $n = 6$ na estação chuvosa).

4.3. Pigmentos fotossintéticos

A análise de variância dos teores de pigmentos fotossintéticos foliares de *P. ovata* mostrou que os pigmentos clorofila *a*, carotenóides e clorofila total diferiram significativamente na hemiparasita em distintas hospedeiras (os valores de ANOVA's encontram-se no Anexo 6), com os maiores valores sendo encontrados em *P. ovata* crescendo em *D. miscolobium* em comparação à mesma em *B. verbascifolia* (Fig. 10A). A sazonalidade do regime hídrico teve efeito nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos de *P. ovata*, sendo encontradas diferenças significativas nesses mesmos pigmentos fotossintéticos (os valores de ANOVA's encontram-se no Anexo 6), com os maiores valores na estação chuvosa (Fig. 10B).

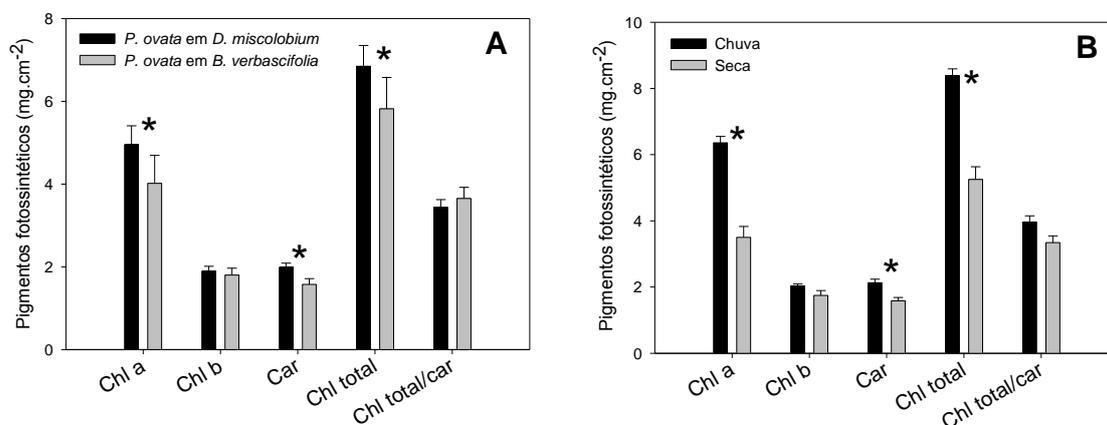


Figura 10. Teor de pigmentos fotossintéticos de *P. ovata*. A – pigmentos fotossintéticos de *P. ovata* nas hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia*, independente da estação; B – pigmentos fotossintéticos de *P. ovata* nas estações chuvosa e seca, independente da hospedeira. Chl – clorofila; Car – carotenóides. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n = 8$ para hospedeiras; $n = 10$ na estação seca; $n = 6$ na estação chuvosa).

A análise ainda apontou interação significativa entre os fatores hospedeira e estação na hemiparasita para clorofila *a* e clorofila total (tabela 3; os valores de ANOVA's encontram-se no Anexo 6). Para clorofila *a* e clorofila total, *P. ovata* em *B. verbascifolia* apresentou na estação seca valores significativamente menores a *P. ovata* nas duas hospedeiras na estação chuvosa e também menor ao valor de *P. ovata* em *D. miscolobium* na mesma estação. Para clorofila total, *P. ovata* em *D. miscolobium* na estação seca, teve valores significativamente menores a *P. ovata* nas duas hospedeiras na estação chuvosa.

Tabela 3. Interações nos pigmentos fotossintéticos ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$) da hemiparasita *P. ovata*, entre os fatores hospedeira (*D. miscolobium* e *B. verbascifolia*) e estação (seca e chuvosa). Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). Média (\pm erro-padrão (n=10 na estação seca; n= 6 na estação chuvosa)).

Pigmento Fotossintético	Estação seca		Estação chuvosa	
	<i>P. ovata</i> em <i>D. miscolobium</i>	<i>P. ovata</i> em <i>B. verbascifolia</i>	<i>P. ovata</i> em <i>D. miscolobium</i>	<i>P. ovata</i> em <i>B. verbascifolia</i>
Clorofila <i>a</i>	4,35 (0,35) <i>a</i>	2,65 (0,08) <i>a</i>	6,45 (0,08) <i>b</i>	6,29 (0,33) <i>b</i>
Clorofila total	6,19 (0,39) <i>a</i>	4,30 (0,27) <i>b</i>	8,47 (0,23) <i>c</i>	8,33 (0,33) <i>c</i>

Testou-se a relação entre as concentrações foliares de N e de pigmentos fotossintéticos de *P. ovata*. Uma significativa e positiva relação linear foi encontrada entre a concentração foliar de N da hemiparasita e clorofila *a* (estação seca), carotenóides (estação seca e chuvosa) e clorofila total (estação seca) (fig. 11).

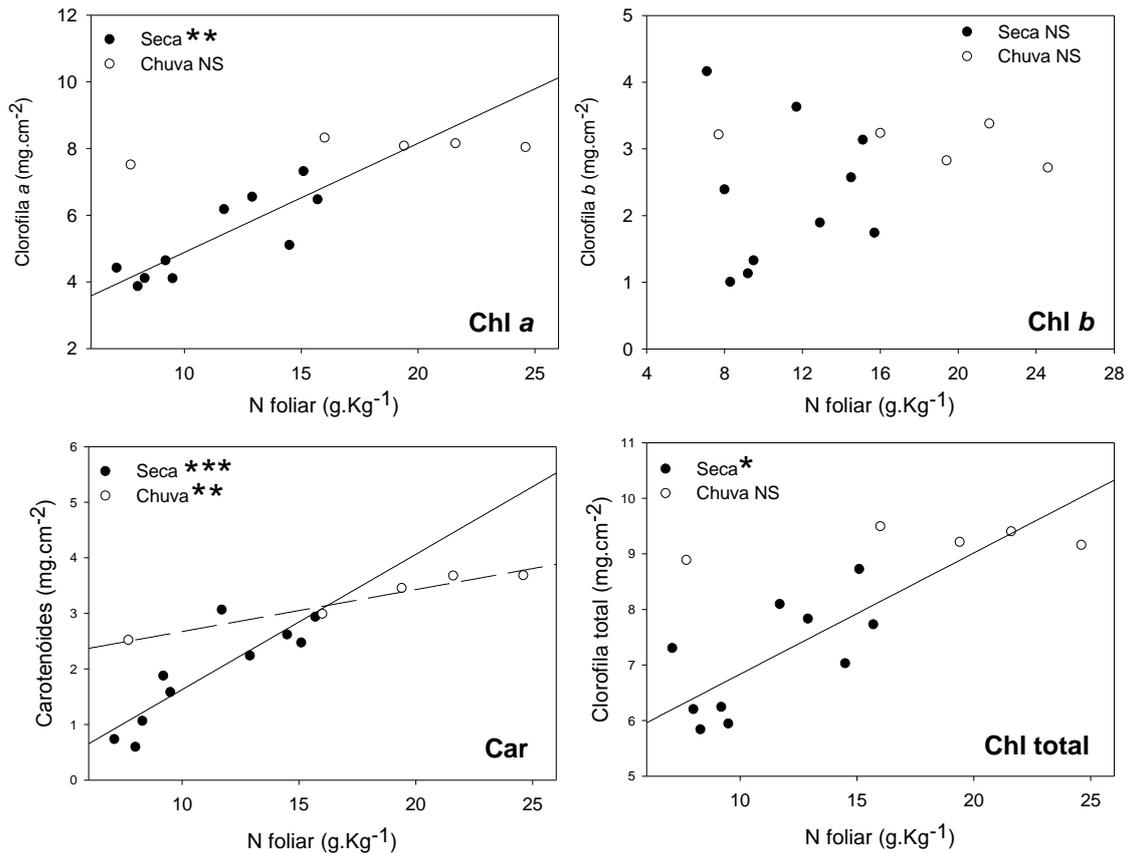


Figura 11. Regressão linear entre as concentrações de pigmentos fotossintéticos e N foliar em *P. ovata*, para a estação seca (círculos fechados e linha contínua) e para a estação chuvosa (círculos abertos e linha tracejada). Clorofila *a* (R^2 seca: 0,70; $Chl\ a = 1,615 + (0,327 * N_{foliar})$), Clorofila *b*; Carotenóides (R^2 seca= 0,75; $Car = -0,808 + (0,244 * N_{foliar})$, R^2 chuva= 0,95; $Car = 1,916 + (0,0756 * N_{foliar})$); Clorofila total (R^2 seca= 0,48; $Clorofila\ total = 4,651 + (0,218 * N_{foliar})$). Regressão com significância de: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS – não-significante.

A análise de variância entre indivíduos parasitados e não-parasitados de *D. miscolobium* não mostrou diferença significativa para nenhum dos pigmentos analisados. Contudo, a estação teve efeito significativo nas concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e na razão clorofila total/carotenóides (os resultados das ANOVA's estão no Anexo 7) com os maiores valores sendo encontrados na estação chuvosa (fig. 12). O termo de interação não foi significativo.

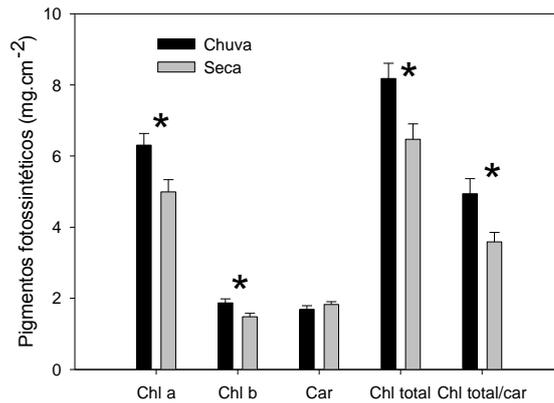


Figura 12. Pigmentos fotossintéticos de *D. miscolobium*, com e sem *P. ovata*, nas estações chuvosa e seca. Chl: clorofila; Car: carotenóides. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n = 10$ na estação seca; $n = 6$ na estação chuvosa).

Para *B. verbascifolia*, a análise de variância quanto a presença da parasita revelou diferença significativa para as razões clorofila total/carotenóides (resultados de ANOVA's são encontrados no Anexo 8), com as maiores razões em indivíduos livres do parasitismo (fig. 13A). A estação influenciou significativamente os pigmentos fotossintéticos analisados de *B. verbascifolia* e razão clorofila total/carotenóides (resultados de ANOVA's são encontrados no Anexo 8); em todos, as maiores concentrações se deram na estação chuvosa (fig. 13B).

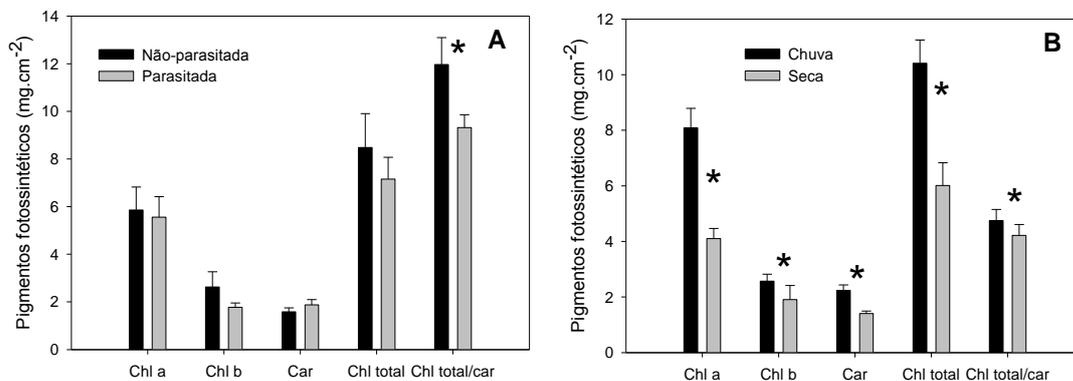


Figura 13. Pigmentos fotossintéticos de *B. verbascifolia*. A – indivíduos parasitados e não-parasitados; B – estações chuvosa e seca (indivíduos parasitados e não-parasitados). Chl – clorofila; Car – carotenóides. Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n = 8$ para hospedeiras; $n = 10$ na estação seca; $n = 6$ na estação chuvosa).

Foi encontrado também interação para *B. verbascifolia* entre os fatores tratamento (parasitados e não-parasitados) e estação, sendo as diferenças significativas para os teores foliares de clorofila *b*, clorofila total e para a razão clorofila

total/carotenóides (valores de ANOVA no anexo 8). Para clorofila *b* e total, as concentrações do pigmento em uma estação se diferiram das concentrações do mesmo na outra estação, independente do parasitismo (tabela 4). Para clorofila total/carotenóides, indivíduos não-parasitados na estação chuvosa se diferiram significativamente e com valores superiores dos indivíduos parasitados na mesma estação e também dos indivíduos livres do parasitismo na estação seca (tabela 4).

Tabela 4. Interações significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos foliares da hospedeira *B. verbascifolia* entre o efeito do parasitismo e das estações. Letras indicam diferenças estatísticas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). Média (\pm erro-padrão (n = 8 para hospedeiras; n=10 na estação seca; n= 6 na estação chuvosa)).

Pigmento Fotossintético	Estação seca		Estação chuvosa	
	<i>P. ovata em D. miscolobium</i>	<i>P. ovata em B. verbascifolia</i>	<i>P. ovata em D. miscolobium</i>	<i>P. ovata em B. verbascifolia</i>
Clorofila <i>b</i> (mg.cm ⁻²)	2,46 (1,14) <i>a</i>	1,46 (0,14) <i>a</i>	2,84 (0,47) <i>b</i>	2,29 (0,13) <i>b</i>
Clorofila total (mg.cm ⁻²)	6,67 (1,75) <i>a</i>	5,48 (0,63) <i>a</i>	10,89 (1,72) <i>b</i>	9,93 (0,53) <i>b</i>
Clorofila total/ Carotenóides	4,95 (0,7) <i>a</i>	3,62 (0,24) <i>a</i>	5,46 (0,45) <i>b</i>	4,04 (0,28) <i>a</i>

4.4. Trocas gasosas

A análise de variância da curva diária de A_{CO_2} na estação chuvosa de indivíduos de *P. ovata*, nas hospedeiras *D. miscolobium* e em *B. verbascifolia* mostrou que às 08h houve diferença significativa na hemiparasita crescendo nas distintas hospedeiras (os resultados de ANOVA's se encontram no Anexo 9A), em que indivíduos de *P. ovata* parasitando *D. miscolobium* apresentaram valores significativamente maiores de A_{CO_2} que *P. ovata* em *B. verbascifolia* (fig. 14B), o mesmo não se repetindo nos demais horários.

A análise entre o conteúdo de N foliar de *P. ovata* e os maiores valores de assimilação de CO_2 nas medidas entre 08 e 10h ($A_{m\acute{a}x}$) mostraram relação significativa ($R^2=0,74$; $p < 0,05$), porém não houve diferença significativa em $A_{m\acute{a}x}$ nesta estação em função das hospedeiras. Foi testada também relação entre o teor de clorofila *a* na hemiparasita e os valores de $A_{m\acute{a}x}$, mas a relação não foi significativa.

Para a transpiração foliar da hemiparasita, diferenças significativas no curso diário da estação chuvosa não foram encontradas (fig. 14C). Já a curva diária de condutância estomática, assim como a curso diário de A_{CO_2} , apresentou uma diferença significativa na medida realizada entre 08h e 10h com os maiores valores em *P. ovata* parasitando *D. miscolobium* (fig. 14D; os resultados de ANOVA's se encontram no Anexo 9A). Uma positiva e significativa correlação foi encontrada entre esses dois parâmetros fisiológicos, A_{CO_2} e g_s ($R^2= 0,83$; $p<0,05$; fig. 15). Embora as taxas transpiratórias não tenham apresentado diferenças estatísticas, elas também tiveram correlações significativas com g_s ($R^2= 0,46$, $p< 0,01$) e com A_{CO_2} ($R^2= 0,45$, $p< 0,01$).

As curvas diárias de EUA e EIUA não apontaram diferenças significativas nesses parâmetros na estação chuvosa. Nessa estação, variações significativas nos valores dos parâmetros nos diferentes horários de medidas foram encontradas para A_{CO_2} , E, g_s e EUA (os resultados de ANOVA's se encontram no Anexo 9A). Para g_s , a interação também foi significativa e revelou que a g_s de *P. ovata* em *D. miscolobium* às 08h diferiu significativamente de todos os demais pontos da curva diária, com exceção da g_s da mesma planta às 10h.

Na estação seca, o curso diário dos parâmetros A_{CO_2} , E, g_s , EUA e EIUA não apresentaram diferenças nos resultados das ANOVA's em função da hospedeira em que a hemiparasita cresce (fig 14E-H). Houve diferença significativa nos valores apenas em função do horário, para os parâmetros E, g_s , EUA e EIUA (os resultados de ANOVA's se encontram no Anexo 9B).

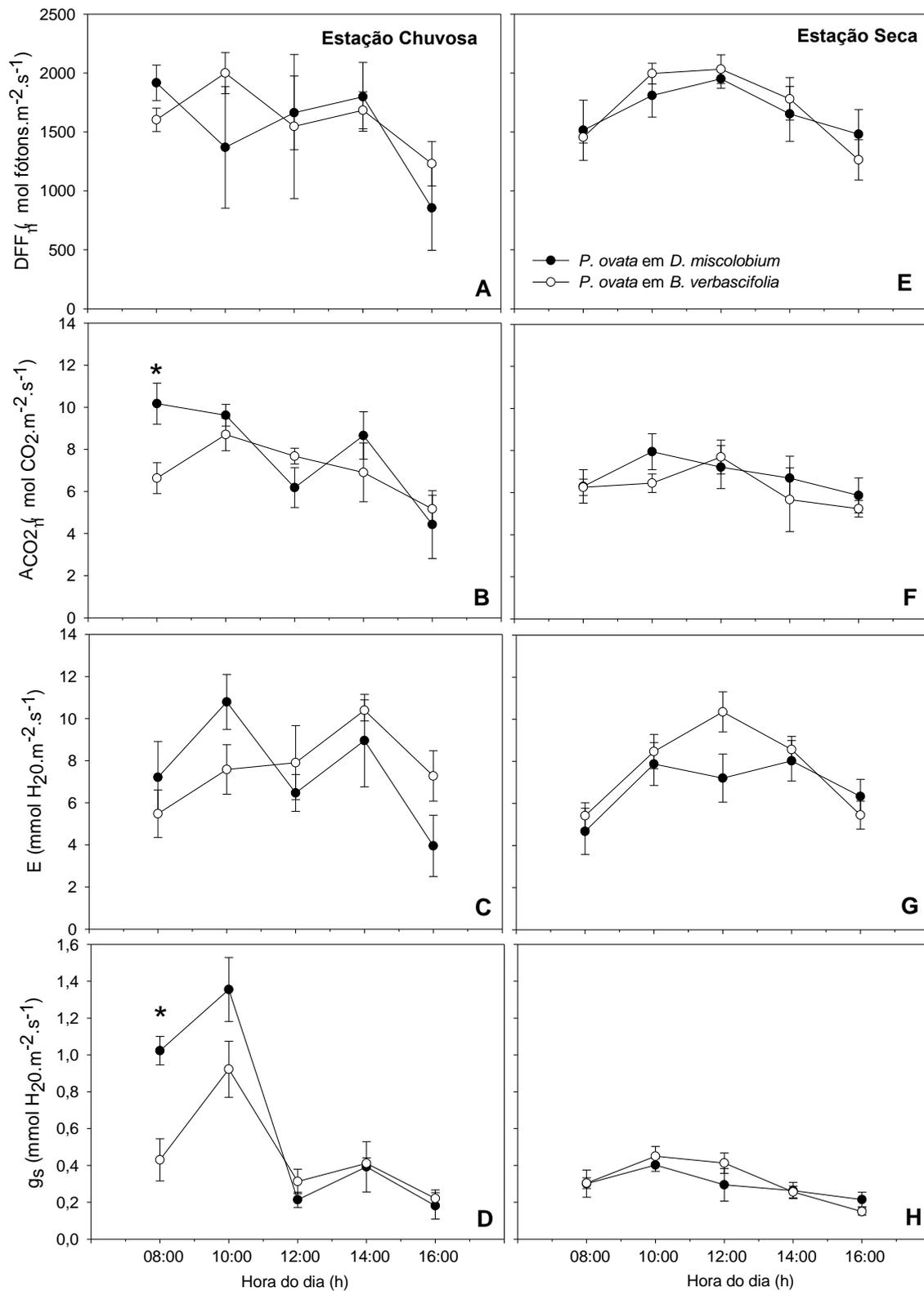


Figura 14. Curvas diárias de trocas gasosas de *P. ovata* em diferentes hospedeiras realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita). A e E – densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFF); B e F – assimilação de CO₂. C e G – transpiração foliar (E); D e H – condutância estomática (g_s). Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey (p < 0,05). As barras representam erro-padrão (n=3, estação chuvosa; n=5, estação seca).

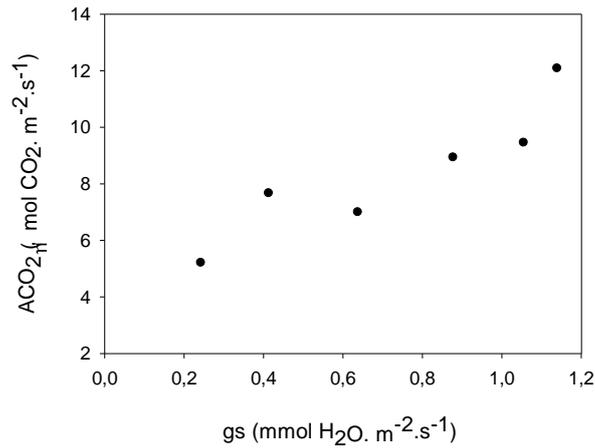


Figura 15. Regressão linear entre condutância estomática e assimilação de CO₂ de *P. ovata* na medida de 08h da estação chuvosa ($R^2 = 0,83$; $p < 0,05$; $ACO_2 = 4,041 + (6,002 * g_s)$).

Em *D. miscolobium*, a análise de variância da estação chuvosa das curvas diárias de ACO₂, E e g_s, não apontaram nenhum efeito da presença da hemiparasita em indivíduos parasitados comparados a não-parasitados desta espécie (fig. 16B-D), o mesmo ocorrendo para EUA e EIUA nesta estação.

Já na estação seca, a análise do curso diário de ACO₂ revelou que indivíduos livres do parasitismo apresentaram ACO₂ significativamente superior a indivíduos parasitados às 14h (fig. 16F; valores de ANOVA's no Anexo 10). Para o curso diário da EIUA, indivíduos parasitados apresentaram maiores valores que aqueles não-parasitados na média diária (e essa diferença também foi significativa às 14h (fig. 17D) (valores de ANOVA's no Anexo 11). Para E, g_s e EIUA diferenças significativas quanto aos horários foram encontradas (valores de ANOVA's no Anexo 10). Os valores de EUA não mostraram nenhum efeito significativo da parasita ou do horário.

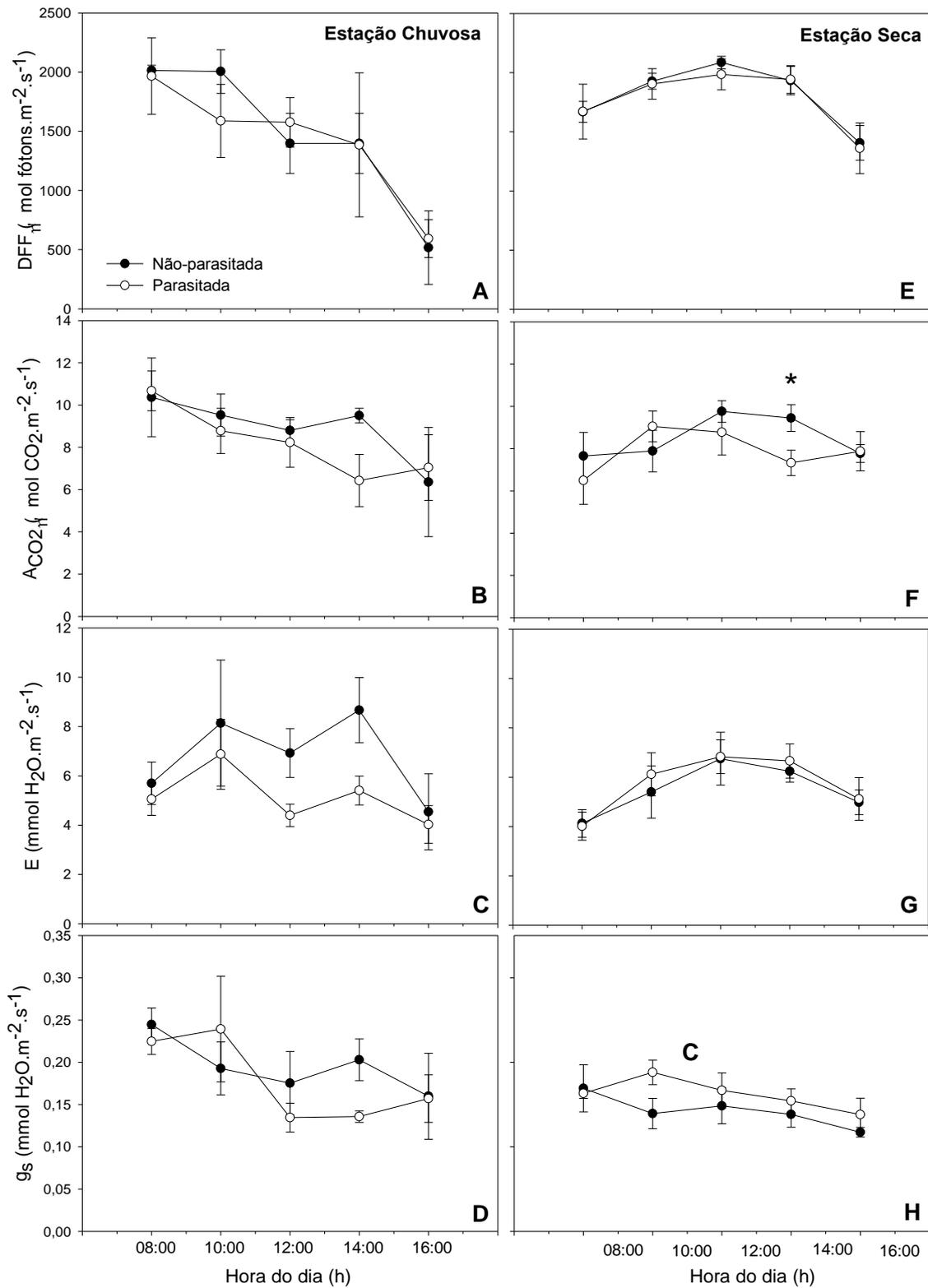


Figura 16. Curvas diárias de trocas gasosas de *D. miscolobium* não-parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita). A e E – densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFF); B e F – assimilação de CO₂. C e G – transpiração foliar (E); D e H – condutância estomática (g_s). Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey (p < 0,05). As barras representam erro-padrão (n=3, estação chuvosa; n=5, estação seca).

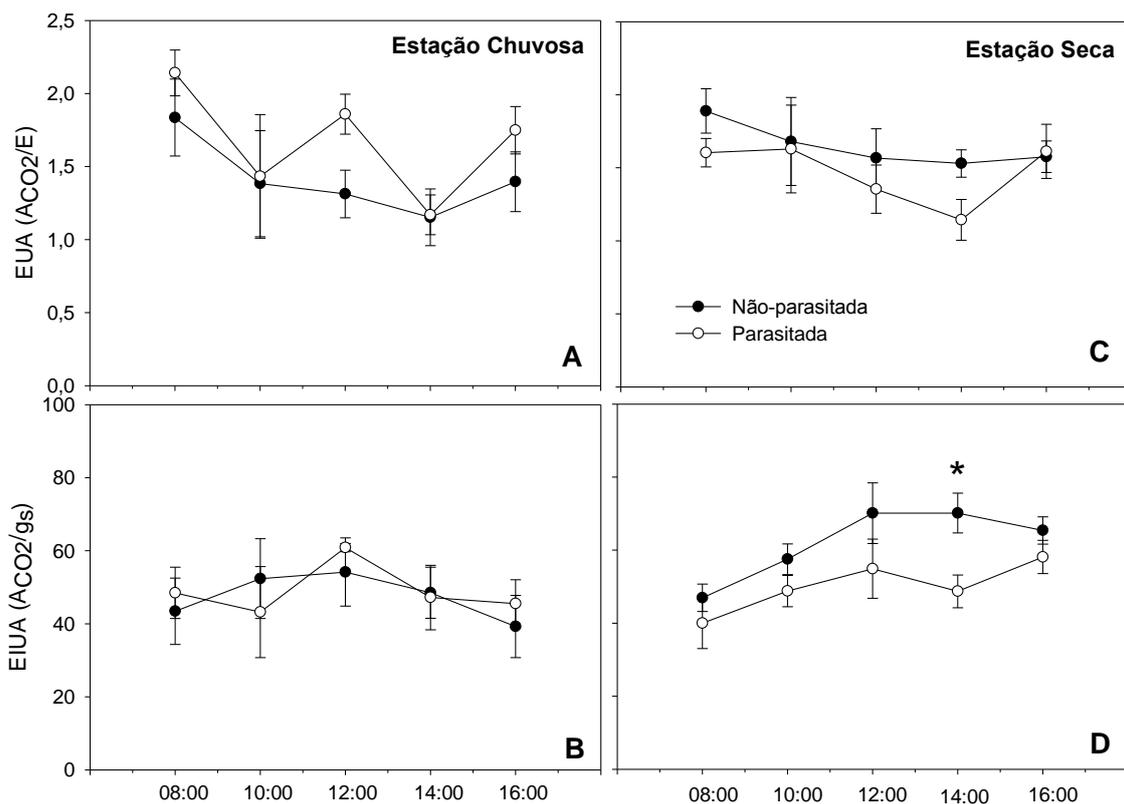


Figura 17. Curvas diárias de uso da água de *D. miscolobium* não-parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita). A e C – eficiência no uso da água (EUA); B e D – eficiência intrínseca no uso da água (EIUA). Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão ($n=3$, estação chuvosa; $n=5$, estação seca).

Nas análises das curvas diárias de *B. verbascifolia* (fig. 18), na medida de 14h da estação chuvosa, diferenças significativas foram encontradas entre indivíduos parasitados e não parasitados para A_{CO_2} e g_s (os resultados de ANOVA's encontram-se no Anexo 11), com os menores valores pertencendo às plantas parasitadas (fig. 18 B, D). Diferenças quanto aos horários foram significativas para os parâmetros, A_{CO_2} , E e g_s , EUA e EIUA (os resultados de ANOVA's encontram-se no Anexo 11). As curvas diárias da estação seca não apresentaram diferenças significativas em função do parasitismo.

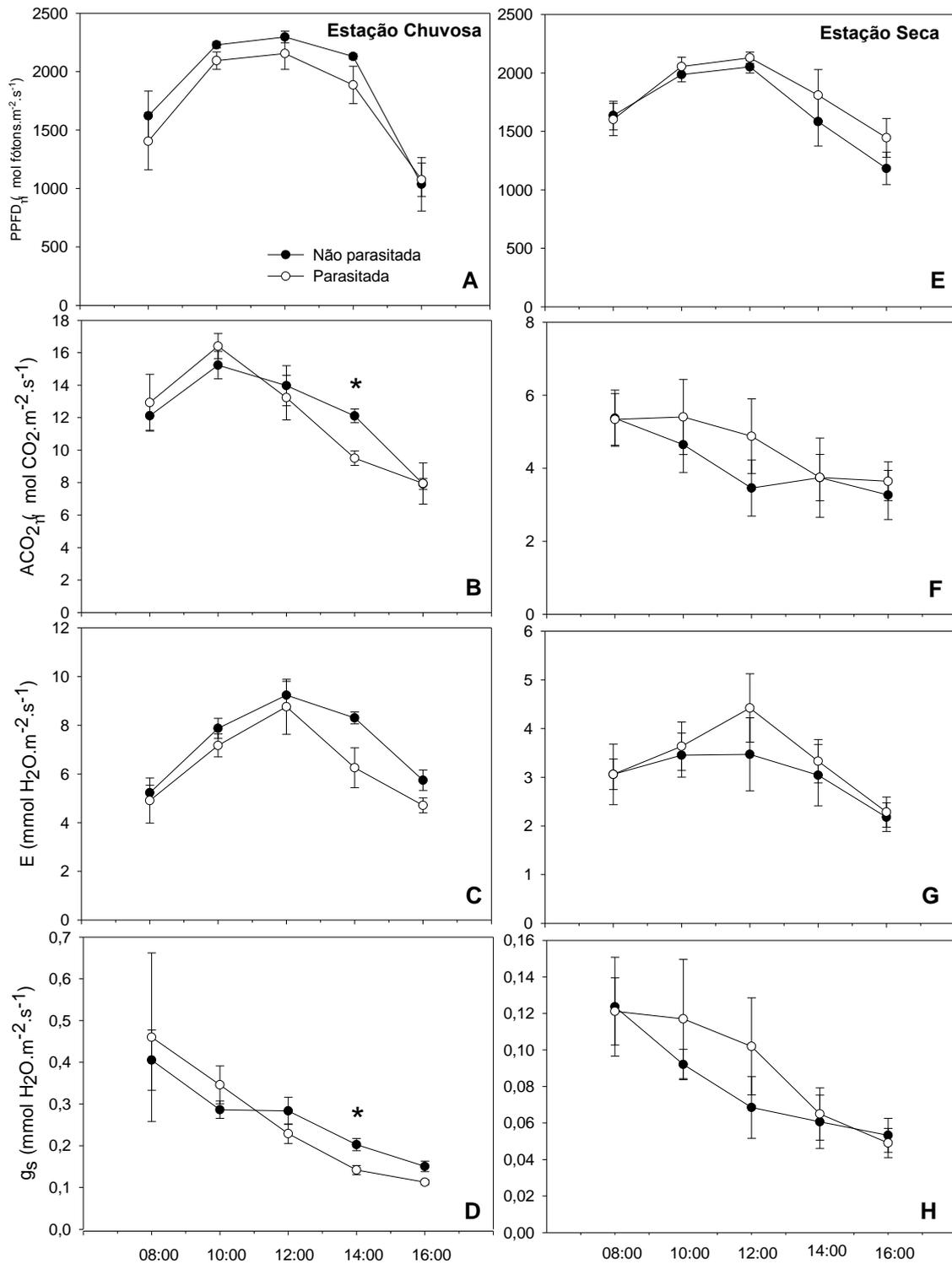


Figura 18. Curvas diárias de trocas gasosas de *B. verbascifolia* não parasitada e parasitada realizadas nas estações chuvosa (à esquerda) e seca (à direita). A e E – densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFF); B e F – assimilação de CO₂. C e G – transpiração foliar (E); D e H – condutância estomática (g_s). Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey (p< 0,05). As barras representam erro-padrão (n=3, estação chuvosa; n=5, estação seca).

4.5. Fluorescência da clorofila a

A análise de variância do curso diário das medidas de fluorescência da estação seca de *P. ovata* nas distintas hospedeiras não apresentou diferença significativa quanto à hospedeira para nenhum dos parâmetros analisados – Φ_{PSII} , ETR, Φ_{NPQ} , Φ_{NO} e F_v/F_m às 19h e antes do amanhecer (fig. 19). Diferenças para esses parâmetros foram encontradas apenas entre os horários (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 12A). Essa diferença em F_v/F_m mostrou que os valores medidos de madrugada foram maiores que os medidos às 19-20h. Regressões lineares entre a concentração de N e os dados do curso diário de fluorescência não foram significantes estatisticamente.

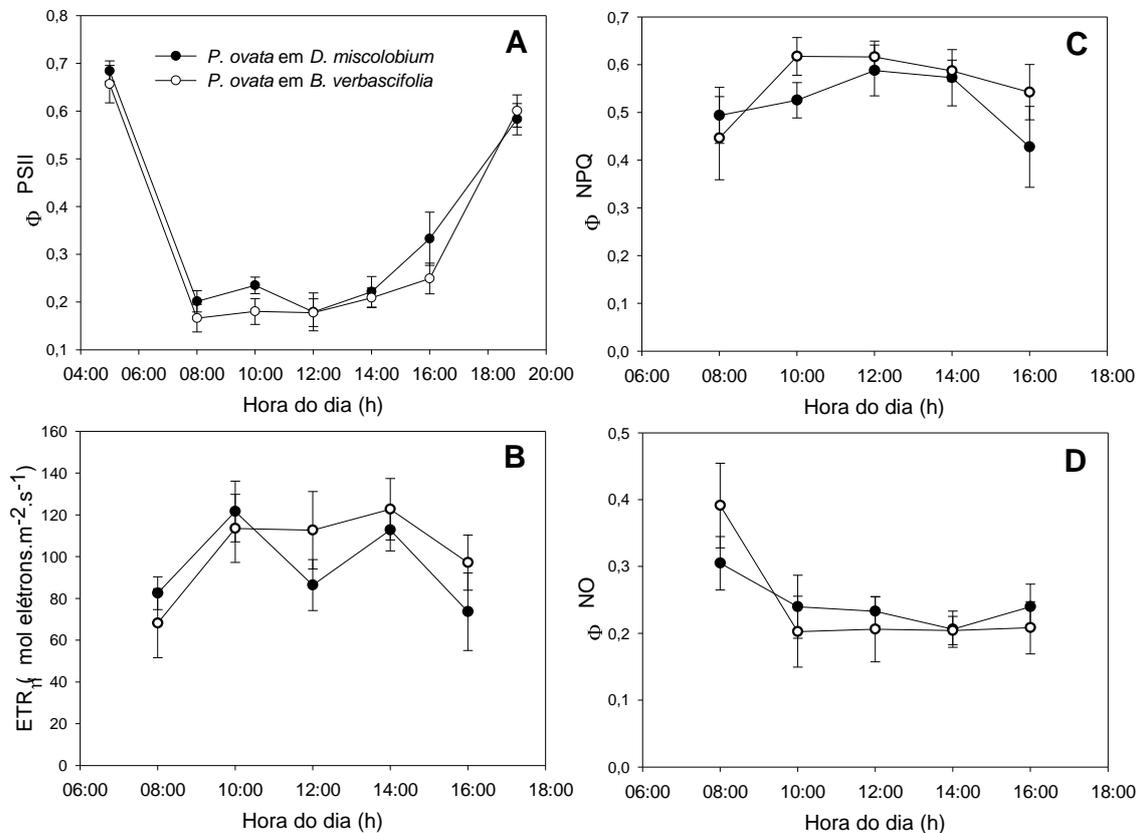


Figura 19. Medidas de fluorescência de *P. ovata* nas hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* na estação seca. A – Φ_{PSII} , B – ETR, C – Φ_{NPQ} e D – Φ_{NO} . Barras representam erro-padrão (n=5).

Em *D. miscolobium*, a análise de variância das curvas diárias de fluorescência não mostraram diferenças em razão da presença da hemiparasita e também não houve interação (fig. 20). Exceto, Φ_{NO} , todos os parâmetros tiveram diferenças significativas quanto ao horário (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 12B). Assim como em *P. ovata*, os maiores valores de F_v/F_m foram os medidos de madrugada.

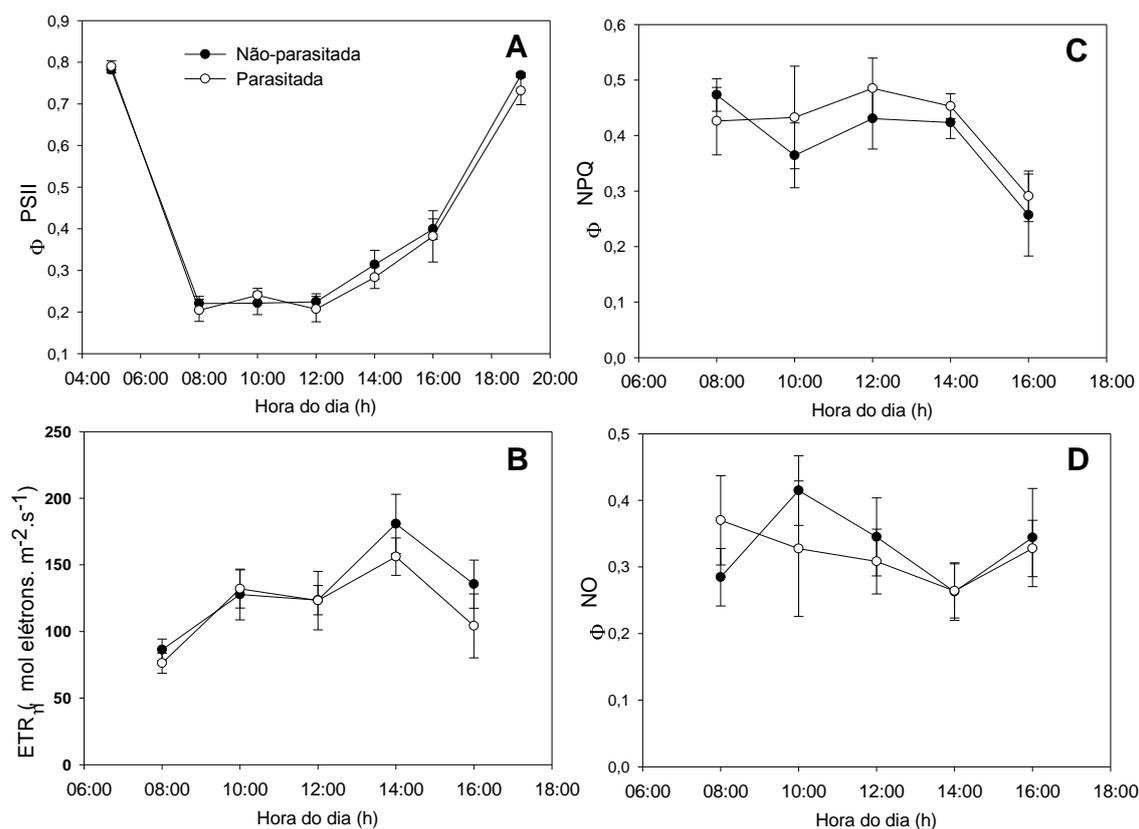


Figura 20. Medidas de fluorescência em indivíduos de *D. miscolobium* parasitados e não-parasitados na estação seca. A – Φ_{PSII} ; B – ETR; C – Φ_{NPQ} ; D – Φ_{NO} . Barras representam erro-padrão (n=5).

O curso diário de fluorescência da clorofila *a* de *B. verbascifolia* (fig. 21) não foi influenciado significativamente pela parasita para todos os parâmetros na média diária, havendo diferença significativa apenas no horário das 14h no Φ_{NPQ} (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 12C), com as plantas parasitadas com valores mais elevados que aquelas livres da parasita (fig. 21). Como houve diferença no Φ_{NPQ} na medida de 14h e também na razão clorofila total/carotenóides nesta hospedeira em função da presença da parasita, testou-se a relação entre esses, porém a relação não foi significativa. O horário influenciou significativamente os valores dos parâmetros ETR, Φ_{NPQ} e F_v/F_m (os resultados das ANOVA's encontram-se no Anexo 12C). Em *B. verbascifolia*, também foi encontrado aumento do valor de F_v/F_m , em que o menor valor foi observado às 19-20h.

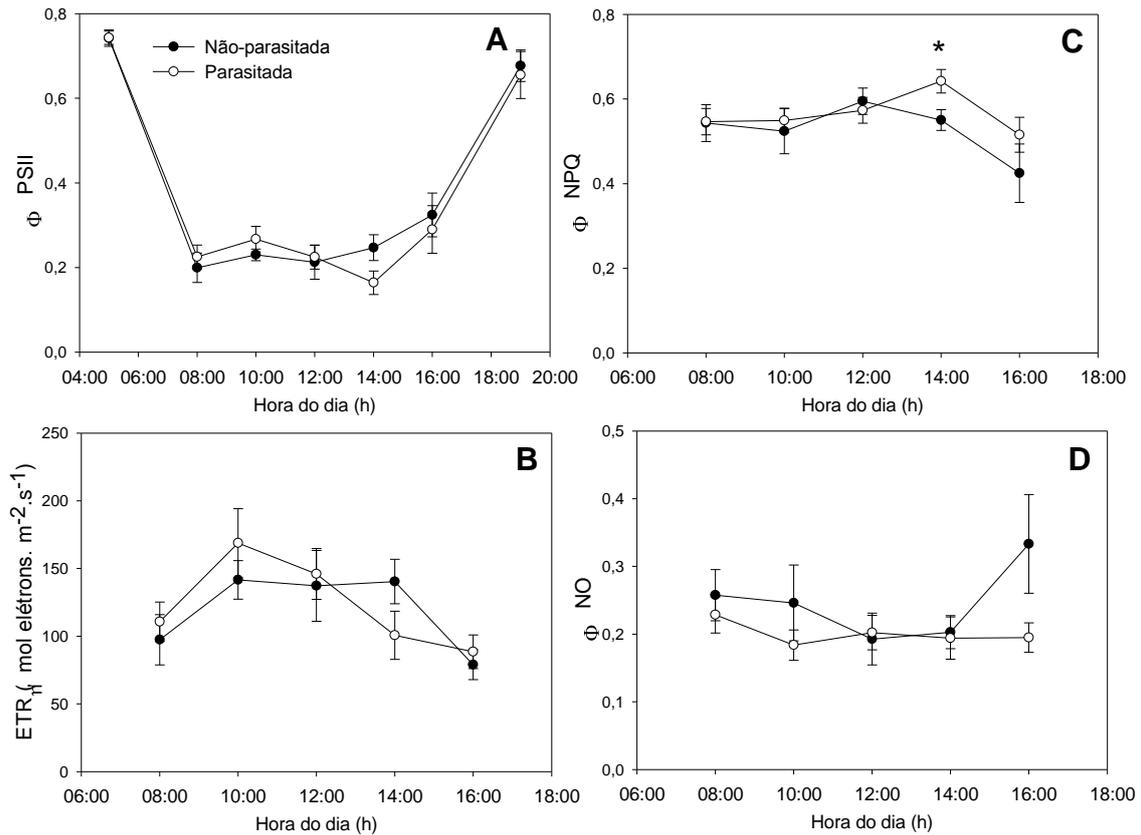


Figura 21. Medidas de fluorescência em indivíduos de *B. verbascifolia* parasitados e não-parasitados na estação seca. A – Φ_{PSII} ; B – ETR; C – Φ_{NPQ} ; D – Φ_{NO} . Diferenças estatísticas indicadas por * de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). Barras representam erro-padrão ($n=5$).

5. DISCUSSÃO

5.1. Potencial hídrico

Segundo Bannister *et al.* (1999), diferenças nos potenciais hídricos podem ser determinadas pelas resistências e taxas de fluxo de água dentro de cada sistema. Hospedeiras distintas apresentarão provavelmente diferenças quanto a esses dois fatores e conseqüentemente, o potencial hídrico na hemiparasita se diferenciará nas distintas hospedeiras. Assim como neste estudo para o $\Psi_{f_{\min}}$, Bowie e Ward (2004) encontraram uma correlação positiva entre o potencial hídrico das hemiparasitas e de suas hospedeiras e sugeriram que o estresse hídrico da hemiparasita é diretamente dependente do balanço hídrico de suas hospedeiras. Bannister *et al.* (1999) também encontraram relação entre o potencial hídrico mínimo de *Ileostylus micranthus* Tiegh. e suas hospedeiras. Baseado nesses dados é possível sugerir que a diferença encontrada

no $\Psi_{f_{\min}}$ de *P. ovata* deve-se a própria diferença entre os potenciais hídricos foliares das hospedeiras.

Como a hemiparasita deve manter potenciais hídricos mais negativos que de suas hospedeiras, mesmo sob estresse hídrico (Glatzel e Geils, 2009), essas diferenças podem ter ficado mais marcantes na estação e horário caracterizados pela alta demanda evaporativa da atmosfera. Esse efeito da sazonalidade no Ψ_f em hemiparasitas também foi notado no trabalho de Scalon (2010) com hemiparasitas e suas hospedeiras em que foram relatadas diferenças significativas no $\Psi_{f_{\max}}$, também na estação seca.

Indivíduos de *D. miscolobium*, assim como a hemiparasita, tiveram diferenças em seu $\Psi_{f_{\min}}$ em razão da estação do ano. A influência da sazonalidade nos valores de potencial hídrico também foi encontrada por outros estudos acerca das relações hídricas de plantas do Cerrado (Bucci *et al.*, 2005; Rossatto, 2008; Palhares *et al.*, 2010; Takahashi, 2010).

Para as hospedeiras, um efeito negativo no balanço hídrico em decorrência do parasitismo por outra planta tem sido reportado por vários trabalhos (Ehleringer *et al.*, 1986; Montilla *et al.*, 1989; Orozco *et al.*, 1990). Esse efeito, porém, como a maioria dos efeitos das hemiparasitas às hospedeiras, é variável e dependente da espécie parasita, do grau de suscetibilidade da hospedeira e do grau da infestação (Stewart e Press, 1990). Nesse estudo, a presença da hemiparasita não afetou o potencial hídrico foliar máximo e mínimo de indivíduos parasitados de *D. miscolobium* e *B. verbascifolia* em comparação a indivíduos livres do parasitismo das mesmas espécies. Resultado semelhante foi encontrado por Bowie e Ward (2004), em que diferentes níveis de infestação da hemiparasita *P. acaciae* não afetaram o potencial hídrico em populações de *A. tortilis* subsp. *raddiana*.

Esses resultados encontrados indicam respostas coordenadas quanto ao balanço hídrico e particionamento de água entre hospedeiras e parasitas. Isso promove que a hemiparasita continuamente capture fluidos xilemáticos da hospedeira e pode vir a se refletir nas concentrações de nutrientes da hemiparasita.

5.2. *Nutrientes foliares*

A análise dos nutrientes foliares de *P. ovata* associada às hospedeiras estudadas revelou que esta hemiparasita refletiu parcialmente as diferenças nutricionais entre suas hospedeiras, como fez para o balanço hídrico. Todos os nutrientes que diferiram entre as hospedeiras, N, P, K, Ca e Mg, também apresentaram diferenças na hemiparasita crescendo nas distintas hospedeiras. Além disso, as concentrações desses nutrientes e do B na hemiparasita estão positiva e significativamente correlacionadas às concentrações dos mesmos nas hospedeiras. Essa mesma espécie hemiparasita, no estudo de Scalon (2010), também apresentou correlação entre suas concentrações foliares e de suas hospedeiras para os nutrientes Ca, Mg, Mn, Cu e Al, sendo observada acumulação facultativa de Al pela hemiparasita, já que ela só o acumula em altas concentrações quando crescendo em hospedeiras acumuladoras deste metal (Lüttge *et al.*, 1998; Scalon, 2010).

Como sugerido por Glatzel e Geils (2009), essas correlações entre as concentrações de nutrientes em hemiparasitas e suas hospedeiras podem, mas não sempre, estar relacionadas. No caso de *P. ovata*, os nutrientes que ocorrem em maiores concentrações nas folhas (macronutrientes), exceto o S, foram fortemente relacionados aos das hospedeiras. Apenas os nutrientes S e Zn não reproduziram as diferenças nas concentrações de nutrientes foliares entre as hospedeiras.

Contudo, esses dois nutrientes apresentam capacidade de translocação xilema-floema intermediária. Esses nutrientes são inicialmente transportados por fluxo transpiracional e dependendo da espécie, podem ser translocados para outros órgãos da planta com maior ou menor facilidade (Martinez *et al.*, 2005). Como a hemiparasita depende da hospedeira para absorver nutrientes e não têm conexões floemáticas com a hospedeira (Glatzel, 1983; Sant'Ana *et al.*, cap. 1), pode acumular em suas folhas esses nutrientes, independente da capacidade de translocação de suas hospedeiras. Assim, pode-se sugerir que diferenças metabólicas entre as plantas hospedeiras, em processos como a translocação de nutrientes, podem ter motivado essas diferenças em S e Zn na hemiparasita nas distintas hospedeiras.

Como nesse estudo, correlação entre N foliar de hemiparasitas e hospedeiras também foi reportado por Wang *et al.* (2007) para *Tapinanthus oleifolius* (Wendl.)

Danser em suas hospedeiras, Radomiljac *et al.* (1999) em *Santalum album* L. em associação com hospedeiras leguminosas e não-leguminosas e em Bowie e Ward (2004) em *Plicosepalus acaciae* (Zucc.) Wiens & Pohl. na leguminosa *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* (Savi) Brenan. Em confirmação à hipótese levantada nesse trabalho, a hemiparasita teve concentrações significativamente maiores deste nutriente quando crescendo na hospedeira leguminosa *D. miscolobium*. Isso era esperado devido as maiores concentrações de N no xilema (Sant'Ana e Franco, *dados não publicados*) e folhas de *D. miscolobium* em comparação à *B. verbascifolia*. No Cerrado, leguminosas são as plantas que apresentam as maiores concentrações de N foliar, independente da fenologia (Carvalho *et al.*, 2007). Outros trabalhos a respeito da nutrição de plantas parasitas (Tennakoon *et al.*, 1997; Radomiljac *et al.*, 1998; Türe *et al.*, 2010) também reportaram que hospedeiras leguminosas são melhores fontes de N para as hemiparasitas associadas que outras espécies hospedeiras.

O fósforo, assim como o N, também teve concentrações maiores em indivíduos de *P. ovata* sobre *D. miscolobium* em relação à mesma em *B. verbascifolia*. Esses dois nutrientes, N e P têm efeitos sinérgicos quando combinados e têm recebido grande atenção dos pesquisadores que lidam com os ecossistemas naturais (Vitousek e Farrington, 1991; Elser *et al.*, 2007). O N é considerado um nutriente limitante nas savanas tropicais (Bustamante *et al.*, 2006) e os baixos níveis de P em solos tropicais intemperizados também são considerados fatores limitadores da produtividade para plantios na agricultura, em solos nativos (Chapuis-Lardy *et al.*, 2001).

A associação com a hospedeira leguminosa gerou aumento nas concentrações desses dois nutrientes na hemiparasita, evitando desbalanço entre esses dois nutrientes nessa em função da hospedeira. Isso pôde ser testado pela análise da razão N:P, usada para analisar se há suprimento adequado desses dois nutrientes (Aerts e Chapin, 2000). A hospedeira não influenciou as razões N:P na hemiparasita. Contudo, a estação afetou significativamente. Essas variações sazonais na razão N:P já foram relatadas para espécies do Cerrado (Carvalho *et al.*, 2007). Apenas na estação chuvosa essa razão indicou deficiência em P (razões com valores iguais ou superiores a 16) na hemiparasita, com valores bem acima de 16. Estudos com espécies lenhosas do Cerrado também apresentaram altos valores da razão N:P (Nardoto *et al.*, 2006; Araújo e Haridasan, 2007; Rossatto, 2008).

Como na razão N:P, a sazonalidade do regime hídrico também afetou as concentrações de nutrientes da hemiparasita *P. ovata*, o que pode estar intimamente ligado a absorção de nutrientes por suas hospedeiras. Glatzel (1983) também encontrou correspondência ao longo das variações sazonais entre as concentrações de N nos órgãos da hemiparasita *Loranthus europaeus* Jacq. e de suas hospedeiras *Quercus petraea* (Matt) Liebl. e *Quercus robur* L. Considerando que a nutrição mineral está intimamente acompanhada do consumo de água (Glatzel, 1983), durante a estação seca, a absorção de nutrientes pelas raízes diminui devido a menor disponibilidade de água no solo (Epstein e Bloom, 2006). Além da disponibilidade hídrica, o estágio de desenvolvimento foliar também determina as concentrações dos nutrientes (Larcher, 2000). Nesse estudo, as duas hospedeiras são brevidecíduas, característica fenológica que pode afetar a absorção de nutrientes na estação seca (Araújo e Haridasan, 2007). Indivíduos das duas hospedeiras estudadas de *P. ovata*, tiveram suas concentrações foliares de nutrientes influenciadas pela sazonalidade, semelhante ao que ocorreu nas hemiparasitas. Assim, a sazonalidade do regime hídrico e fases fenológicas das hospedeiras podem ter influenciado a absorção de nutrientes pelas hospedeiras e, como a hemiparasita depende da absorção de nutrientes pela hospedeira, resultou na variação sazonal na concentração dos nutrientes foliares da hemiparasita.

Além das características nutricionais da hospedeira afetarem os conteúdos nutricionais foliares da hemiparasita, o parasitismo também pode afetar a concentração dos mesmos na hospedeira (Montilla *et al.*, 1989). Em *B. verbascifolia*, os resultados indicam que a hemiparasita exerceu influência negativa no conteúdo foliar de K. Ele ativa muitas enzimas e é o maior agente catiônico celular, relacionado profundamente à abertura estomática (Epstein e Bloom, 2006). Esse efeito foi provavelmente causado devido aos efeitos de parasitismo de *P. ovata*, ou seja, a absorção dos recursos pela hemiparasita diminui a chegada desses aos ramos parasitados (Glatzel e Geils, 2009).

5.3. Pigmentos fotossintéticos

Em geral, os teores de pigmentos fotossintéticos nas folhas são influenciados pela absorção de nutrientes pelas plantas (Gonçalves *et al.*, 2001). Entre os nutrientes, N é o que mais diretamente afeta a concentração de pigmentos fotossintéticos, pois é

constituente das clorofilas e carotenóides, além de outras moléculas estruturais e enzimas, como as que constituem o aparato fotossintético (Taiz e Zeiger, 2004). Quando crescendo na hospedeira leguminosa, *D. miscolobium*, a hemiparasita *P. ovata* apresentou maior teor de clorofila *a*, carotenóides e clorofila total em relação àquelas sobre *B. verbascifolia*. Essa resposta dos pigmentos fotossintéticos à hospedeira mais rica em N é comparável às respostas fisiológicas encontradas em experimentos com adubação nitrogenada, em que um dos efeitos positivos do acréscimo de N está no aumento das concentrações dos pigmentos fotossintéticos (Zhang e Shangguan, 2006; Pompelli *et al.*, 2010). Essas maiores concentrações de clorofila *a* e clorofila total em *P. ovata* parasitando *D. miscolobium* implicam fisiologicamente em maior quantidade de pigmentos coletores de energia luminosa (Larcher, 2000), o que irá aumentar a coleta de luz e que poderá aumentar a capacidade fotossintética da hemiparasita (Demming-Adams e Adams, 1992).

Correlações significativas e positivas foram encontradas entre a concentração de N foliar na estação seca e os teores de clorofila *a*, carotenóides e clorofila total em *P. ovata* crescendo em *D. miscolobium*. Radomiljac *et al.* (1999) também encontraram correlação positiva entre o conteúdo de clorofila total (*a+b*) da hemiparasita *S. album* e o conteúdo de N foliar quando em hospedeira leguminosa.

Além da hospedeira, a sazonalidade no regime hídrico também influenciou a concentração de pigmentos fotossintéticos na hemiparasita. Carvalho *et al.* (2007) encontraram relações entre a variação sazonal das concentrações de pigmentos e à progressão da senescência foliar, normalmente observadas para as comunidades do Cerrado no final da estação seca. Assim como os pigmentos fotossintéticos, as concentrações de N de *P. ovata* também sofreram influência da estação. A diminuição de N foliar, devido à sazonalidade da disponibilidade hídrica e fenologia das hospedeiras, é a causa mais provável para a redução nos teores de pigmentos fotossintéticos na hemiparasita na estação seca. Embora os pigmentos fotossintéticos tenham sofrido redução em suas concentrações na estação seca, as interações encontradas indicam que a hospedeira com maior suprimento de N influenciou positivamente nos teores foliares de pigmentos fotossintéticos da hemiparasita, com uma diminuição menos acentuada nos pigmentos quando a hemiparasita cresceu numa hospedeira fixadora em relação à *P. ovata* em uma não-fixadora.

Quanto aos indivíduos parasitados e livres do parasitismo, apenas a razão clorofila total/carotenóides em *B. verbascifolia* se diferenciou significativamente com as maiores razões em indivíduos não-parasitados. Assim como neste trabalho, Scalon (2010) encontrou diferenças entre indivíduos de *B. verbascifolia* parasitados e não-parasitados por *P. ovata*, com os menores valores em indivíduos parasitados. Porém, as diferenças foram encontradas na época seca quanto às concentrações de carotenóides e na razão clorofila *a/b*.

Nas duas hospedeiras a variação sazonal implicou numa redução nos teores foliares de pigmentos fotossintéticos. Assim como para as concentrações de pigmentos na hemiparasita, essa redução pode ter sido consequência da característica fenológica dessas hospedeiras (Carvalho *et al.*, 2007), ambas brevidecíduas, e também devido ao processo de absorção de nutrientes, fundamental para a síntese de pigmentos fotossintéticos (Gonçalves *et al.*, 2001), ser influenciado pela disponibilidade hídrica.

Esses dados mostram a influência da disponibilidade nutricional da hospedeira, especialmente da disponibilidade de N, sobre as concentrações de pigmentos na hemiparasita. Esse efeito ficou mais evidenciado na estação seca em que o suprimento hídrico é reduzido.

5.4. Trocas gasosas

Assim como a concentração de pigmentos fotossintéticos é influenciada pelo suprimento de N (Pompelli *et al.*, 2010), a taxa fotossintética da maioria das plantas também é fortemente influenciada pela disponibilidade de N (Evans, 1983; Bondada e Syvertsen, 2003; Zhang e Shangguan, 2006). Em hemiparasitas, isso parece não ser diferente (Marshall *et al.*, 1994; Radomiljac *et al.*, 1999). Nesse estudo, a resposta fotossintética da hemiparasita a disponibilidade de N foi significativa, embora apenas no horário do início da manhã da estação chuvosa. Nesse período, indivíduos da hemiparasita em *D. miscolobium* apresentaram maiores taxas de assimilação de CO₂ do que indivíduos crescendo em *B. verbascifolia*. Como a fotossíntese é dependente do influxo de CO₂, processo controlado pela abertura estomática (Larcher, 2000), os valores de condutância estomática também foram maiores na hemiparasita em *D. miscolobium*.

A relação significativa entre N foliar e assimilação máxima de CO₂ (A_{máx}) não se refletiu em diferenças significativas na hemiparasita. Isso era esperado na A_{máx} e/ou ao longo de toda a curva diária, já que crescendo na hospedeira leguminosa, a hemiparasita apresentou maiores teores de N foliar e de clorofila *a*, dois fatores que estão associados, normalmente, a maiores taxas fotossintéticas (Radomiljac *et al.*, 1999). Entretanto, deve-se salientar que o processo fotossintético é dependente de vários outros fatores além da disponibilidade de N (Larcher, 2000; Singh e Singh, 2006) e que o conteúdo de clorofila nem sempre está relacionado à eficiência fotossintética (Angadi *et al.*, 1988). Entre outros fatores, a deficiência nutricional que é frequentemente enfrentada pelas plantas hemiparasitas (Glatzel e Geils, 2009), pode acarretar um declínio na fotossíntese (Bondada e Syvertsen, 2003).

Além da nutrição mineral, fatores externos também exercem grande influência nas taxas fotossintéticas (Larcher, 2000). No Cerrado, devido a altas taxas de irradiância, altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar associada à forte sazonalidade na disponibilidade hídrica do solo, muitas espécies lenhosas restringem consideravelmente a abertura estomática limitando a transpiração para manter um balanço hídrico favorável (Bucci *et al.*, 2005; Franco *et al.*, 2005; Franco *et al.*, 2007). Esses fatores parecem afetar também as trocas gasosas da hemiparasita. Assim a maior disponibilidade hídrica na estação chuvosa e condições ambientais (irradiância, umidade relativa do ar, temperatura) em seus valores ótimos no início do dia, podem ter sido fatores determinantes para que as diferenças encontradas tenham ocorrido apenas nesse horário dessa estação.

Os dados de transpiração foliar e eficiência no uso da água de *P. ovata* junto aos resultados encontrados para os nutrientes foliares se opõem a hipótese proposta por Schulze *et al.* (1984). Esses autores sugerem que hemiparasitas podem responder a baixas concentrações de N na seiva xilemática de suas hospedeiras aumentando o fluxo transpiratório, e conseqüentemente regulando o uso da água, para obter N em quantidade suficiente. No presente estudo, não houve diferenças nas taxas transpiratórias e no uso da água de *P. ovata* nas diferentes hospedeiras (que se diferem quanto ao conteúdo de N), sugerindo que não há aclimação de *P. ovata* à menor disponibilidade de N em uma hospedeira. Semelhante conclusão foi relatada por Press *et al.* (1993) e Radomiljac *et al.* (1999) para hemiparasitas de raiz.

Quanto às implicações do parasitismo nas trocas gasosas, diferente das holoparasitas que podem até aumentar a capacidade fotossintética de suas hospedeiras, muitas hemiparasitas têm efeitos negativos na fotossíntese da hospedeira (Graves *et al.*, 1989; Orozco *et al.*, 1990). Os mecanismos pelos quais elas limitam a fixação de carbono variam de impactos diretos para mudanças na arquitetura da hospedeira que impedem a captura de luz (Watling e Press, 2001; Cuevas-Reyes *et al.*, 2011) e também diminuição na cobertura foliar, o que pode diminuir a produtividade geral da planta infestada (Mourão *et al.*, 2009). Alguns estudos têm reportado mudanças na resposta da fotossíntese ao CO₂ (resposta A_{CO_2}/c_i) em plantas parasitadas e sugerem ocorrer impacto sobre a capacidade fotossintética dessas plantas independente de qualquer limitação estomática à fotossíntese (Watling e Press, 2001), o que também foi encontrado neste estudo na hospedeira *D. miscolobium*.

A infestação de *P. ovata* também afetou a eficiência intrínseca no uso da água de *D. miscolobium* e A_{CO_2} e g_s de *B. verbascifolia*. Essas respostas vão de encontro ao afirmado por Glatzel e Geils (2009), em que os baixos potenciais hídricos impostos pelos ramos da hemiparasita, acarretam um desbalanço hídrico que a planta hospedeira não pode controlar. Assim, a hospedeira pode diminuir sua abertura estomática (Chen *et al.*, 2011), controlando o uso da água para tentar minimizar a perda de água e manter o balanço hídrico e conseqüentemente, menos CO₂ é absorvido, impactando as taxas de assimilação (Orozco *et al.*, 1990). Assim, a hospedeira compensa a perda de água pela hemiparasita, reduzindo seu consumo no horário de maior demanda evaporativa da atmosfera.

5.5. Fluorescência da clorofila a

As medidas de fluorescência têm sido bastante usadas em estudos fisiológicos como indicador da capacidade fotossintética das plantas (Maxwell e Johnson, 2000), fotoinibição (Moraes e Prado, 1998) além do particionamento da energia em processos assimilatórios e não assimilatórios (Franco e Lüttge, 2002). Para analisar o efeito do N, que é constituinte de moléculas dissipadoras de energia e que, sob deficiência, pode gerar fotoinibição nas plantas (Lu e Zhang, 2000; Pompelli *et al.*, 2010), medidas de fluorescência na hemiparasita foram comparadas, mas o maior suprimento de N obtido

em *P. ovata* associada a *D. miscolobium* não resultou em um aumento na eficiência fotoquímica e/ou dissipação de energia da hemiparasita.

Embora distinto do objetivo inicial, é interessante notar que os resultados na estação seca de F_v/F_m da hemiparasita, mostraram que, independente da hospedeira, essa apresentou fotoinibição crônica, ou seja, com fotodano e diminuição de F_v/F_m a longo prazo. Os valores de F_v/F_m estavam na faixa de $0,670 \pm 0,067$, bem inferiores à 0,75-0,8 que são valores usuais para plantas em condições ótimas e para folhas de sombra ou baixa luminosidade, com valores ao redor de 0,83-0,85 (Maxwell e Johnson, 2000; Raghavendra, 2000). Qualquer valor abaixo de 0,725 seria certamente considerado fotoinibição, segundo Raghavendra (2000), indicando algum tipo de estresse que as plantas tenham sido submetidas. A fotoinibição pode ser mais prevalente durante a estação seca quando a condutância estomática e as trocas de CO_2 sofrem uma diminuição mais pronunciada (Franco *et al.*, 2007). Assim como *P. ovata*, a fotoinibição crônica, também foi encontrada durante o pico da estação seca para seis espécies do Cerrado estudadas por Moraes e Prado (1998). A fotoinibição crônica envolve a danificação do maquinário fotossintético e diminui a capacidade fotossintética e taxa fotossintética máxima (Hideg *et al.*, 2002).

Os valores obtidos de F_v/F_m nesse estudo estão dentro dos encontrados por Lüttge *et al.* (1998) para hemiparasitas num campo rupestre muito exposto à luminosidade, mas diferem dos encontrados por esses autores para a hemiparasita *P. ovata* num ambiente de Cerrado. As possíveis causas para as diferenças encontradas no F_v/F_m entre esse trabalho e o de Lüttge *et al.* (1998) no cerrado podem ter sido geradas por fatores como a estação da coleta, diferença na cobertura arbórea e característica fenológica das hospedeiras, que interferem na quantidade de luz incidente na hemiparasita. Esses dados reforçam o sugerido por Strong *et al.* (2000). Segundo esses autores, plantas hemiparasitas aéreas se comportam como plantas de sombra. As espécies de sombra têm baixas capacidades de transporte de elétrons assim como de respostas fotoprotetoras como a dissipação de calor e fluorescência. Ainda, espécies pouco adaptadas a altas intensidades luminosas apresentam um nível menor de plasticidade em suas respostas fotossintéticas (Lortie e Assen, 1996). Plantas adaptadas a sombra, podem assim, sofrer maiores riscos fotoinibitórios se expostas a altos níveis de luz, como sugerido por Lemos-Filho *et al.* (2004).

O uso dos parâmetros da fluorescência sobre o efeito do parasitismo nas hospedeiras, revelou que *B. verbascifolia* parasitada apresentou variação em seu rendimento quântico não-fotoquímico relacionado à fotoproteção, Φ_{NPQ} , em 1 horário na estação seca. A diferença pontual pode indicar que o efeito da parasita sobre a hospedeira pode ser mais marcante em um período do dia com forte risco de fotoinibição à hospedeira em que essa precisa aumentar significativamente sua dissipação de energia para evitar um fotodano, embora sem afetar com a mesma significância sua taxa fotoquímica. De acordo com Franco *et al.* (2007) esse tipo de ajuste para dissipação de energia por processos não-fotoquímicos provê um mecanismo dinâmico para reduzir o risco de fotoinibição no meio-dia em plantas do Cerrado quando a irradiância e temperatura são maiores e o fechamento parcial dos estômatos resultam em considerável redução nas concentrações internas de CO₂. Esses autores também encontraram um fino ajuste entre o ciclo das xantofilas e os processos de dissipação de energia em espécies do Cerrado. Embora na estação seca não tenham sido encontradas diferenças na condutância estomática neste horário, esses dados sugerem que a presença da hemiparasita afetou a dissipação de energia da hospedeira.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos para as respostas fisiológicas da hemiparasita *P. ovata* mostram que essa teve seu balanço hídrico e nutricional influenciado por suas hospedeiras, em que refletiu diferenças entre as hospedeiras no potencial hídrico mínimo e na maioria dos nutrientes foliares. Perante menor disponibilidade hídrica ($\Psi_{f_{\min}}$), a hemiparasita mostrou resposta coordenada no uso da água, o que segundo Ullmann *et al.* (1985) pode ser fundamental para a sobrevivência da hospedeira e parasita em ambientes secos e quentes. Já para os nutrientes, o fato da hemiparasita refletir as diferenças nutricionais de suas hospedeiras, mostra o quão plástica é essa parasita, que sendo generalista precisa se aclimatar aos diferentes perfis nutricionais característicos de cada hospedeira.

Essa relação nutricional, conforme sugerido em nossas hipóteses, houve maior disponibilidade de N na hospedeira leguminosa e levou a um aumento no conteúdo de N foliar da hemiparasita, nos teores de pigmentos fotossintéticos e, pontualmente, na

assimilação de CO₂ e condutância estomática da hemiparasita estudada. Contudo, outros horários da curva diária e parâmetros de fluorescência não foram significativamente influenciados pela disponibilidade diferencial de N entre as duas hospedeiras e não houve evidências significativas de resposta compensatória de aumento da transpiração da hemiparasita na hospedeira com menor disponibilidade de N, como sugerido por alguns autores (Schulze *et al.*, 1984).

A presença da hemiparasita comprometeu alguns parâmetros das hospedeiras, porém não similarmente. O parasitismo de *P. ovata* afetou a eficiência intrínseca do uso da água e taxa de assimilação na medida de 14 h da estação seca da hospedeira *D. miscolobium* e influenciou o conteúdo de potássio foliar, razão clorofila total/carotenóides, taxa de assimilação e de condutância estomática na medida das 14 h da estação chuvosa e quenching não-fotoquímico relacionado à fotoproteção (Φ_{NPQ}) da estação seca de *B. verbascifolia*. Observa-se que nas medidas de trocas gasosas, as duas hospedeiras apresentaram variação em decorrência da hemiparasita, embora em estações distintas. Esses dados sugerem que a hospedeira *B. verbascifolia* pode ter sido mais afetada pela presença da hemiparasita que a hospedeira *D. miscolobium*.

A variação sazonal, típica do Cerrado, influenciou todos os parâmetros em que foi analisado, tanto nas hospedeiras (pelo menos em uma) quanto na hemiparasita. Considerando as relações encontradas entre a hemiparasita e suas hospedeiras no balanço hídrico e nutricional, alterações na absorção desses recursos pelas hospedeiras é a causa mais provável para as respostas encontradas na hemiparasita. Essas respostas relacionadas entre *P. ovata* e suas hospedeiras pode ser essencial para a sobrevivência das duas plantas associadas (Stewart e Press, 1990), já que a disponibilidade hídrica é um fator limitante neste ambiente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS³

- Aerts R, Chapin FS. 2000.** The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* **30**: 1–67.
- Allen SE. 1989.** *Chemical analysis of ecological materials*. 2nd edn. Oxford: Wiley-Blackwell Scientific Publication.
- Angadi VG, Kamala BS, Rai SN. 1988.** Effect of deficiency of trace elements on leaf area, chlorophyll level and photosynthetic efficiency in tree seedlings. *Myforest* **24**: 124–128.
- Araújo JF, Haridasan M. 2007.** Relação entre a deciduidade e concentrações foliares de nutrientes em espécies lenhosas do Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* **30**: 533–542.
- Bannister P, King WM, Strong GL. 1999.** Aspects of the water relations of *Ileostylus micranthus* (Hook. F.) Tieghem, a New Zealand mistletoe. *Annals of Botany* **84**: 79–86.
- Bell TL, Adams MA. 2011.** Attack on all fronts: functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. *Tree Physiology* **31**: 3–15.
- Bondada BR, Syvertsen JP. 2003.** Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology* **23**: 553–559.
- Bowie M, Ward D. 2004.** Water and nutrient status of the mistletoe *Plicosepalus acaciae* parasitic on isolated Negev Desert populations of *Acacia raddiana* differing in level of mortality. *Journal of Arid Environments* **56**: 487–508.
- Bucci SJ, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Campanello P, Scholz FG. 2005.** Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees* **19**: 296–304.
- Bustamante MMC, Medina E, Asner GP, Nardoto GB, Garcia-Montiel DC. 2006.** Nitrogen cycling in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry* **79**: 209–237.
- Carvalho APF, Bustamante MMC, Kozovits AR, Asner GP. 2007.** Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de Cerrado com diferentes estratégias fenológicas. *Revista Brasileira de Botânica* **30**: 19–27.

³ As referências foram apresentadas no texto e nesta seção seguindo as normas da revista *Annals of Botany*.

- Chapuis-Lardy L, Brossard M, Quiquarnpoix H. 2001.** Assessing organic phosphorus status of Cerrado oxisols (Brazil) using ^{31}P -NMR spectroscopy and phosphomonoesterase activity measurement. *Canadian Journal of Soil Science* **81**: 591-601.
- Chen H, Shen H, Ye W, Cao H, Wang Z. 2011.** Involvement of ABA in reduced photosynthesis and stomatal conductance in *Cuscuta campestris* - *Mikania micrantha* association. *Biologia Plantarum* **55**: 545–548.
- Cordeiro L. 2000.** Fixação de nitrogênio em leguminosas ocorrentes no Cerrado. In: Klein AL, org. *Eugen Warming e o Cerrado brasileiro: um século depois*. Editora da UNESP: São Paulo, 131–147.
- Cuevas-Reyes P, Fernandes GW, González-Rodríguez A, Pimenta, M. 2011.** Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of rupestrian host plants. *Basic and Applied Ecology* **12**: 449–455.
- Demming-Adams B, Adams III WW. 1992.** Photoprotection and other responses of plants on high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**: 599–626.
- Ehleringer JR, Cook CS, Tieszen LL. 1986.** Comparative water use and nitrogen relationships in a mistletoe and its host. *Oecologia (Berlin)* **68**: 279–284.
- Ehleringer JR, Schulze E-D, Ziegler H, Lange OL, Farquhar GD, Cowar IR. 1985.** Xylem-tapping mistletoes: water and nutrient parasites? *Science* **227**: 1479–1481.
- Elser JJ, Bracken MES, Cleland EE, Gruner DS, Harpole WS, Hillebrand H, Ngai JT, Seabloom EW, Shurin JB, Smith JE. 2007.** Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* **10**: 1135–1142.
- Epstein E, Bloom AJ. 2006.** *Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas*, 2nd edn. Londrina: Editora Planta.
- Evans JR. 1983.** Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant physiology* **72**: 297–302.
- Franco AC, Bustamante M, Caldas LS, Goldstein G, Meinzer FC, Kozovits AR, Rundel P, Coradin VTR. 2005.** Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees* **19**: 326–335.

- Franco AC, Lüttge U. 2002.** Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* **131**: 356–365.
- Franco AC, Matsubara S, Orthen B. 2007.** Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree Physiologist* **27**: 717–725.
- Glatzel G, Geils BW. 2009.** Mistletoe ecophysiology: host-parasite interactions. *NRC Research Press Botany* **87**: 10–15.
- Glatzel G. 1983.** Mineral nutrition and water relations of hemiparasitic mistletoes: a question of partitioning. Experiments with *Loranthus europaeus* on *Quercus petraea* and *Quercus robur*. *Oecologia* **56**: 193–201.
- Gonçalves JFC, Marengo RA, Vieira G. 2001.** Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **13**: 149–157.
- Graves JD, Press MC, Stewart GR. 1989.** A carbon balance model of the *Sorghum-Striga hermonthica* host-parasite association. *Plant, Cell and Environment* **12**: 101–107.
- Hideg E, Barta C, Kálai T, Vass I, Hideg K, Asada K. 2002.** Detection of singlet oxygen and superoxide with fluorescent sensors in leaves under stress by photoinhibition or UV radiation. *Plant Cell Physiology* **43**: 1154–1164.
- IBGE. 2004.** IBGE: ambiente e plantas vasculares. Estudos e pesquisas: informação geográfica 3. Em: <ftp://geofp.ibge.gov.br/documentos/recursosnaturais/levantamento/reserva.pdf>.
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE. 2004.** New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* **79**: 209–218.
- Larcher W. 2000.** *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RiMa.
- Lebauer DS, Treseder KK. 2008.** Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology* **89**: 371–379.
- Lemos Filho JP, Goulart MF, Lovato MB. 2004.** Chlorophyll fluorescence parameters in populations of two legume trees: *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae) and *Cassia ferruginea* (Schrad.) Schrad. ex DC. (Caesalpinoideae) *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 527–532.
- Lortie CJ, Aarssen LW. 1996.** The specialization hypothesis for phenotypic plasticity in plants. *International Journal of Plant Science* **157**: 484–487.

- Lu C, Zhang J. 2000.** Photosynthetic CO₂, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Science* **151**: 135–143.
- Lüttge U, Haridasan M, Fernandes GW, Mattos EA, Trimborn P, Franco AC, Caldas LS, Ziegler H. 1998.** Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in Tropical Brazil. *Trees* **12**: 167–74.
- Marshall JD, Dawson TE, Ehleringer TJR. 1994.** Integrated nitrogen, carbon, and water relations of a xylem-tapping mistletoe following nitrogen fertilization of the host. *Oecologia* **100**: 430–438.
- Martinez HEP, Zabini AV, Franco AIL, Novais RF. 2005.** Translocação e compartimentalização de Zn em função de doses aplicadas em feijoeiro e cafeeiro via radicular. *Ciencia Rural* **35**: 491-497.
- Mathiasen RL, Nickrent DL, Shaw DC, Watson DM. 2008.** Mistletoes: pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Disease* **92**: 988–1006.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000.** Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Journal of Experimental Botany* **51**: 359–368.
- Montilla M, Azócar A, Goldstein G. 1989.** Efectos de La hemiparásita *Phthirusa pyrifolia* sobre El balance hídrico de dos hospedantes. *Acta ecologia* **10**: 379–396.
- Moraes JAPV, Prado CHBA. 1998.** Photosynthesis and water relations in Cerrado vegetation. In: Scarano FR, Franco AC, eds. *Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the Neotropics*. Rio de Janeiro: Series Oecologia Brasiliensis (4) – PPGE-UFRJ, 45–63.
- Mourão FA, Jacobi CM, Figueira JEC, Batista EKL. 2009.** Effects of the parasitism of *Struthanthus flexicaulis* (Mart.) Mart. (Loranthaceae) on the fitness of *Mimosa calodendron* Mart. (Fabaceae), an endemic shrub from rupestrian fields over ironstone outcrops, Minas Gerais State, Brazil. *Acta botanica brasiliica* **23**: 820–825.
- Nardoto GB, Bustamante MMC, Pinto AS, Klink CA. 2006.** Nutrient use efficiency at ecosystem and species level in savanna areas of Central Brazil and impacts of fire. *Journal of Tropical Ecology* **22**: 191–201.
- Orozco A, Rada F, Azocar A, Goldstein G. 1990.** How does a mistletoe affect the water, nitrogen and carbon balance of two mangrove ecosystem species? *Plant, Cell and Environment* **13**: 941–947.
- Palhares D, Franco AC, Zaidan LBP. 2010.** Respostas fotossintéticas de plantas de Cerrado nas estações seca e chuvosa. *Revista brasileira de Biociências* **8**: 213–220.

- Pompelli MF, Martins SCV, Antunes WC, Chaves ARM, DaMatta FM. 2010.** Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *Journal of Plant Physiology* **167**: 1052–1060.
- Press MC, Parsons AN, Mackay AW, Vincent CA, Cochrane V, Seel WE. 1993.** Gas exchange characteristics and nitrogen relations of two Mediterranean root hemiparasites: *Bartsia trixago* and *Parentuceltia viscosa*. *Oecologia* **95**: 145–151.
- Radomiljac AM, McComb JA, Pate JS, Tennakoon KU. 1998.** Xylem transfer of organic solutes in *Santalum album* L. (Indian Sandalwood) in association with legume and non-legume hosts. *Annals of Botany* **82**: 675–682.
- Radomiljac AM, McComb JA, Pate JS. 1999.** Gas exchange and water relations of the root hemi-parasite *Santalum album* L. in association with legume and non-legume hosts. *Annals of Botany* **83**: 215–224.
- Raghavendra AC. 2000.** *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ramalho JC, Pons TL, Groeneveld HW, Azinheira HG, Nunes MA. 2000.** Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 43–51.
- Rizzini CT. 1951.** O parasitismo de “Loranthaceae” sobre monocotiledôneos. *Revista Brasileira de Biologia* **11**: 289–302.
- Rossatto DR. 2008.** *Padrões anatômicos, fenológicos, fotossintéticos e de crescimento em espécies arbóreas do cerrado sensu stricto e de mata de galeria*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Scalon MC. 2010.** *Plantas hemiparasitas do Cerrado e sua relação com hospedeiras acumuladoras e não-acumuladoras de Al*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Schulze E-D, Lange OL, Ziegler H, Gebauer G. 1991.** Carbon and nitrogen isotope ratios of mistletoes growing on nitrogen and non-nitrogen fixing hosts and on CAM plants in the Namib desert confirm partial heterotrophy. *Oecologia* **88**: 457–462.
- Schulze ED, Turner NC, Glatzel G. 1984.** Carbon, water and nutrient relationships of two mistletoes and their hosts: a hypothesis. *Plant, Cell and Environment* **7**: 293–299.
- Seel WE, Press MC. 1993.** Influence of the host on three sub-Arctic annual facultative root hemiparasites. *New Phytologist* **125**: 131–138.

- Singh B, Singh G. 2006.** Effects of controlled irrigation on water potential, nitrogen uptake and biomass production in *Dalbergia sissoo* seedlings. *Environmental and Experimental Botany* **55**: 209–219.
- Stewart GR, Press MC. 1990.** The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**: 127–151.
- Strong GL, Bannister P, Burritt D. 2000.** Are mistletoes shade plants? CO₂ assimilation and chlorophyll fluorescence of temperate mistletoes and their hosts. *Annals of botany* **85**: 511–519.
- Taiz L, Zeiger E. 2004.** *Fisiologia Vegetal*. 3th edn. Porto Alegre: Editora Artmed.
- Takahashi FSC. 2010.** *Atributos e tipos funcionais de espécies lenhosas no cerrado*. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Tennakoon KU, Pate JS, Stewart GR. 1997.** Haustorium-related uptake and metabolism of host xylem solutes by the root hemiparasitic shrub *Santalum acuminatum* (R. Br.) A. DC. (Santalaceae). *Annals of Botany* **80**: 257–264.
- Türe C, Böcük H, Aşan Z. 2010.** Nutritional relationships between hemi-parasitic mistletoe and some of its deciduous hosts in different habitats. *Biologia* **65**: 859–867.
- Ullmann I, Lange OL, Ziegler H, Ehleringer J, Schulze E-D, Cowan IR. 1985.** Diurnal courses of leaf conductance and transpiration of mistletoes and their hosts in Central Australia. *Oecologia (Berlin)* **67**: 577–587.
- Vitousek PM, Howarth RW. 1991.** Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry* **13**: 87–115.
- Wang L, Kgope B, D’Odorico P, Macko SA. 2007.** Carbon and nitrogen parasitism by a xylem-tapping mistletoe (*Tapinanthus oleifolius*) along the Kalahari Transect: a stable isotope study. *African Journal of Ecology* **46**: 540–546.
- Watling JR, Press MC. 2001.** Impacts of infection by parasitic angiosperms on host photosynthesis. *Plant biology* **3**: 244–250.
- Wellburn AR. 1994.** The spectral determination of chlorophylls *a* and *b* as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* **144**: 307–313.
- Zhang X, Shangguan Z. 2006.** Effects of nitrogen fertilization on leaf photosynthesis and respiration of different drought-resistance winter wheat varieties. *Ying yong sheng tai xue bao* **17**: 2064–2069.

ANEXO 1. Resultados das ANOVA's de potencial hídrico foliar (Ψ_f) das espécies estudadas. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

A. Valores de ANOVA's do potencial hídrico foliar máximo ($\Psi_{f_{\text{máx}}}$) e mínimo ($\Psi_{f_{\text{mín}}}$) de *P. ovata*.

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (estação)	1	0,00253	11	0,03452	0,0732	0,791716
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (hospedeira)	1	0,00119	11	0,03452	0,0345	0,856060
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (interação)	1	0,00436	11	0,03452	0,1264	0,728951
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (estação)	1	0,86400	12	0,07192	12,0127	0,004666
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (hospedeira)	1	0,41667	12	0,07192	5,7932	0,033099
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (interação)	1	0,30104	12	0,07192	4,1856	0,063332

B. Valores de ANOVA's do potencial hídrico foliar máximo e mínimo de *D. miscolobium*.

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (estação)	1	0,047110	12	0,048340	0,9746	0,343035
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (hospedeira)	1	0,012943	12	0,048340	0,2678	0,614247
$\Psi_{f_{\text{máx}}}$ (interação)	1	0,067084	12	0,048340	1,3877	0,261620
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (estação)	1	0,036160	12	0,005786	6,24990	0,027916
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (hospedeira)	1	0,018841	12	0,005786	3,25652	0,096278
$\Psi_{f_{\text{mín}}}$ (interação)	1	0,015184	12	0,005786	2,62439	0,131197

ANEXO 2. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares entre indivíduos parasitados das hospedeiras *D. miscolobium* e *B. verbascifolia*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas e * indica diferença significativa em ANOVA, porém não significativa de acordo com teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nutriente	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
N (hospedeira)	1	2,53382	12	0,00608	416,746	< 0,000001
N (interação)	1	0,01262	12	0,00608	2,075	0,175324
P (hospedeira)	1	0,001127	12	0,000029	39,000	0,000043
P (interação)	1	0,000327	12	0,000029	11,308	0,005646
N:P (hospedeira)	1	252,01	12	6,35	39,696	0,000039
N:P (interação)	1	80,12	12	6,35	12,620	0,003978
K (hospedeira)	1	0,083627	12	0,006418	13,0305	0,003581
K (interação)	1	0,005227	12	0,006418	0,8144	0,384578
Ca (hospedeira)	1	1,710282	12	0,016854	101,4736	< 0,000001
Ca (interação)	1	0,179307	12	0,016854	10,6385	0,006807
Mg (hospedeira)	1	0,010270	12	0,001684	6,0972	0,029534
Mg (interação)	1	0,002470	12	0,001684	1,4666	0,249193
S (hospedeira)	1	0,000010	12	0,000076	0,138	0,716883
S (interação)	1	0,000010	12	0,000076	0,138	0,716883
Zn (hospedeira)	1	0,004	12	4,556	0,0009	0,976370
Zn (interação)	1	0,504	12	4,556	0,1107	0,745121
Fe (hospedeira)	1	13832	12	27988	0,4942	0,495471
Fe (interação)	1	91	12	27988	0,0033	0,955402
Mn (hospedeira)	1	1617,2	12	529,4	3,0549	0,106010
Mn (interação)	1	44,2	12	529,4	0,0835	0,777540
Cu (hospedeira)	1	6,3375	12	0,8333	7,6050	0,017352*
Cu (interação)	1	10,8375	12	0,8333	13,0050	0,003604
B (hospedeira)	1	725,58	12	258,67	2,8051	0,119809
B (interação)	1	531,93	12	258,67	2,0564	0,177107

ANEXO 3. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de *P. ovata*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

Nutriente	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
N (estação)	1	2,59792	11	0,02394	108,510	< 0,000001
N (hospedeira)	1	0,88712	11	0,02394	37,053	0,000079
N (interação)	1	0,000048	11	0,02394	0,148	0,708238
P (estação)	1	0,000882	12	0,000532	1,6566	0,222339
P (hospedeira)	1	0,006407	12	0,000532	12,0376	0,004635
P (interação)	1	0,000107	12	0,000532	0,2004	0,662359
N:P (estação)	1	0,36957	12	0,02029	18,217	0,001092
N:P (hospedeira)	1	0,00213	12	0,02029	0,105	0,751588
N:P (interação)	1	0,00807	12	0,02029	0,398	0,539995
K (estação)	1	0,01121	12	0,14407	0,0778	0,785069
K (hospedeira)	1	2,82534	12	0,14407	19,6107	0,000823
K (interação)	1	0,00054	12	0,14407	0,0037	0,952190
Ca (estação)	1	0,518071	12	0,032081	16,1487	0,001704
Ca (hospedeira)	1	1,911514	12	0,032081	59,5834	0,000005
Ca (interação)	1	0,039191	12	0,032081	1,2216	0,290713
Mg (estação)	1	0,00028	12	0,03940	0,0071	0,934175
Mg (hospedeira)	1	0,60929	12	0,03940	15,4637	0,001990
Mg (interação)	1	0,09638	12	0,03940	2,4461	0,143796
S (estação)	1	0,000735	12	0,000184	3,9849	0,069110
S (hospedeira)	1	0,001602	12	0,000184	8,6837	0,012216
S (interação)	1	0,000027	12	0,000184	0,1446	0,710416
Zn (estação)	1	0,45435	12	0,03186	14,2612	0,002641
Zn (hospedeira)	1	0,23047	12	0,03186	7,2342	0,019683
Zn (interação)	1	0,06228	12	0,03186	1,9547	0,187387
Fe (estação)	1	19368,1	12	852,3	22,7239	0,000459
Fe (hospedeira)	1	1674,8	12	852,3	1,9650	0,186312
Fe (interação)	1	0,8	12	852,3	0,0010	0,975815
Mn (estação)	1	0,16385	12	0,03977	4,120	0,065153
Mn (hospedeira)	1	0,17670	12	0,03977	4,443	0,056748
Mn (interação)	1	0,03379	12	0,03977	0,850	0,374818
Cu (estação)	1	116,2042	12	6,0111	19,3316	0,000870
Cu (hospedeira)	1	0,0375	12	6,0111	0,0062	0,938347
Cu (interação)	1	3,0375	12	6,0111	0,5053	0,490761
B (estação)	1	0,01420	12	0,02751	0,516	0,486299
B (hospedeira)	1	0,40313	12	0,02751	14,654	0,002404
B (interação)	1	0,00270	12	0,02751	0,098	0,759661

ANEXO 4. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de *D. miscolobium*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas

Nutriente	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
N (estação)	1	0,24975	11	0,01367	18,265	0,001312
N (parasita)	1	0,00409	11	0,01367	0,299	0,595478
N (interação)	1	0,02102	11	0,01367	1,537	0,240855
P (estação)	1	0,06741	11	0,00256	26,340	0,000327
P (parasita)	1	0,00092	11	0,00256	0,360	0,560475
P (interação)	1	0,00109	11	0,00256	0,427	0,526906
N:P (estação)	1	81,24	11	7,40	10,978	0,006913
N:P (parasita)	1	0,73	11	7,40	0,098	0,759776
N:P (interação)	1	0,01	11	7,40	0,002	0,968925
K (estação)	1	0,000174	11	0,002613	0,0667	0,800913
K (parasita)	1	0,000520	11	0,002613	0,1991	0,664090
K (interação)	1	0,001212	11	0,002613	0,4639	0,509903
Ca (estação)	1	0,001319	11	0,002923	0,4512	0,515625
Ca (parasita)	1	0,001408	11	0,002923	0,4815	0,502124
Ca (interação)	1	0,008381	11	0,002923	2,8668	0,118518
Mg (estação)	1	0,000123	11	0,000985	0,1252	0,730159
Mg (parasita)	1	0,000004	11	0,000985	0,0045	0,947831
Mg (interação)	1	0,000167	11	0,000985	0,1691	0,688822
S (estação)	1	0,00265	11	0,00356	0,746	0,406152
S (parasita)	1	0,00679	11	0,00356	1,908	0,194642
S (interação)	1	0,00019	11	0,00356	0,054	0,820646
Zn (estação)	1	0,2306	11	5,1515	0,0448	0,836298
Zn (parasita)	1	6,9766	11	5,1515	1,3543	0,269153
Zn (interação)	1	11,3009	11	5,1515	2,1937	0,166642
Fe (estação)	1	92101	11	9250	9,9574	0,009152
Fe (parasita)	1	656	11	9250	0,0709	0,795000
Fe (interação)	1	11437	11	9250	1,2365	0,289862
Mn (estação)	1	0,05110	11	0,01767	2,892	0,117067
Mn (parasita)	1	0,00989	11	0,01767	0,560	0,470019
Mn (interação)	1	0,00282	11	0,01767	0,160	0,697217
Cu (estação)	1	0,193720	11	0,088241	2,19534	0,166498
Cu (parasita)	1	0,003801	11	0,088241	0,04307	0,839379
Cu (interação)	1	0,001100	11	0,088241	0,01246	0,913120
B (estação)	1	0,08	11	93,98	0,0008	0,977544
B (parasita)	1	83,53	11	93,98	0,8889	0,366033
B (interação)	1	3,08	11	93,98	0,0328	0,859562

ANEXO 5. Resultados das ANOVA's para concentrações de nutrientes foliares de *B. verbascifolia*. Diferenças significativas em negrito e * indica diferença significativa em ANOVA, porém não significativa de acordo com teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nutriente	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
N (estação)	1	0,132726	12	0,002373	55,94286	0,000007
N (parasita)	1	0,001880	12	0,002373	0,79253	0,390834
N (interação)	1	0,019061	12	0,002373	8,03425	0,015050
P (estação)	1	0,06190	12	0,00243	25,46	0,000286
P (parasita)	1	0,00169	12	0,00243	0,69	0,420983
P (interação)	1	0,03469	12	0,00243	14,27	0,002636
N:P (estação)	1	0,01334	12	0,00368	3,630	0,080971
N:P (parasita)	1	0,00001	12	0,00368	0,001	0,970632
N:P (interação)	1	0,00232	12	0,00368	0,632	0,442153
K (estação)	1	0,092827	12	0,011484	8,0828	0,014813
K (parasita)	1	0,077760	12	0,011484	6,7709	0,023136
K (interação)	1	0,011760	12	0,011484	1,0240	0,331543
Ca (estação)	1	0,28291	12	0,03419	8,2751	0,013917
Ca (parasita)	1	0,04704	12	0,03419	1,3759	0,263554
Ca (interação)	1	0,06534	12	0,03419	1,9112	0,192017
Mg (estação)	1	0,000082	12	0,002024	0,0403	0,844181
Mg (parasita)	1	0,001500	12	0,002024	0,7409	0,406229
Mg (interação)	1	0,013500	12	0,002024	6,6685	0,023994
S (estação)	1	0,000184	12	0,000121	1,5172	0,241636
S (parasita)	1	0,000000	12	0,000121	0,0034	0,954193
S (interação)	1	0,000150	12	0,000121	1,2420	0,286914
Zn (estação)	1	8,817	12	4,322	2,0398	0,178732
Zn (parasita)	1	0,817	12	4,322	0,1889	0,671509
Zn (interação)	1	0,067	12	4,322	0,0154	0,903218
Fe (estação)	1	1075	12	36343	0,0296	0,866299
Fe (parasita)	1	3010	12	36343	0,0828	0,778405
Fe (interação)	1	25420	12	36343	0,6995	0,419310
Mn (estação)	1	310,54	12	261,37	1,1881	0,297112
Mn (parasita)	1	495,94	12	261,37	1,8975	0,193510
Mn (interação)	1	0,94	12	261,37	0,0036	0,953228
Cu (estação)	1	0,017614	12	0,009676	1,8203	0,202181
Cu (parasita)	1	0,000861	12	0,009676	0,0889	0,770623
Cu (interação)	1	0,129090	12	0,009676	13,3409	0,003311
B (estação)	1	79,24	12	288,66	0,2745	0,609876
B (parasita)	1	73,37	12	288,66	0,2542	0,623276
B (interação)	1	1506,51	12	288,66	5,2189	0,041341*

ANEXO 6. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de *P. ovata*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas. (Chl –clorofila; car – carotenóides).

Pigmento	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
Chl a (estação)	1	0,246685	11	0,002994	82,384	0,000002
Chl a (tratamento)	1	0,039916	11	0,002994	13,330	0,003813
Chl a (estação*tratamento)	1	0,031449	11	0,002994	10,503	0,007862
Chl b (estação)	1	0,019275	11	0,009024	2,1360	0,171847
Chl b (tratamento)	1	0,002438	11	0,009024	0,2702	0,613501
Chl b (estação*tratamento)	1	0,003266	11	0,009024	0,3619	0,559626
Car (estação)	1	0,065096	11	0,001896	34,3416	0,000109
Car (tratamento)	1	0,038803	11	0,001896	20,4709	0,000866
Car (estação*tratamento)	1	0,005207	11	0,001896	2,7469	0,125658
Chl total (estação)	1	0,149214	11	0,002796	53,372	0,000015
Chl total (tratamento)	1	0,022263	11	0,002796	7,963	0,016611
Chl total (estação*tratamento)	1	0,018076	11	0,002796	6,465	0,027347
Chl total/ Car (estação)	1	0,017199	11	0,005454	3,1533	0,103407
Chl total/ Car (tratamento)	1	0,002283	11	0,005454	0,4185	0,530934
Chl total/ Car (estação*tratamento)	1	0,003880	11	0,005454	0,7114	0,416957

ANEXO 7. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de *D. miscolobium*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas. (Chl – clorofila; car –carotenóides).

Pigmento	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
Chl a (estação)	1	6,6847	11	0,8963	7,4583	0,019544
Chl a (parasita)	1	1,1453	11	0,8963	1,2778	0,282347
Chl a (interação)	1	0,3743	11	0,8963	0,4176	0,531395
Chl b (estação)	1	0,56396	11	0,08677	6,4993	0,027025
Chl b (parasita)	1	0,08565	11	0,08677	0,9870	0,341827
Chl b (interação)	1	0,00218	11	0,08677	0,0251	0,876915
Car (estação)	1	0,05435	11	0,06068	0,8957	0,364255
Car (parasita)	1	0,09385	11	0,06068	1,5468	0,239461
Car (interação)	1	0,01075	11	0,06068	0,1771	0,681957
Chl a+b (estação)	1	11,1319	11	1,4789	7,5272	0,019109
Chl a+b (parasita)	1	1,8573	11	1,4789	1,2559	0,286302
Chl a+b (interação)	1	0,3193	11	1,4789	0,2159	0,651233
Chl total/Car (estação)	1	0,22046	11	0,01560	14,130	0,003160
Chl total/Car (parasita)	1	0,00005	11	0,01560	0,004	0,953741
Chl total/Car (interação)	1	0,06963	11	0,01560	4,463	0,058325

ANEXO 8. Resultados das ANOVA's para os pigmentos fotossintéticos de *B. verbascifolia*. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas. (Chl – clorofila; car – carotenóides).

Pigmento	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
Chl a (estação)	1	81,1704	11	1,2619	64,3223	0,000006
Chl a (parasita)	1	0,5179	11	1,2619	0,4104	0,534866
Chl a (interação)	1	3,2017	11	1,2619	2,5372	0,139502
Chl b (estação)	1	0,283042	11	0,006221	45,4944	0,000032
Chl b (parasita)	1	0,015663	11	0,006221	2,5176	0,140888
Chl b (interação)	1	0,031219	11	0,006221	5,0180	0,046694
Car (estação)	1	3,18819	11	0,10267	31,0532	0,000167
Car (parasita)	1	0,20864	11	0,10267	2,0321	0,181757
Car (interação)	1	0,02368	11	0,10267	0,2307	0,640447
Chl a+b (estação)	1	122,822	11	1,522	80,7141	0,000002
Chl a+b (parasita)	1	4,095	11	1,522	2,6908	0,129187
Chl a+b (interação)	1	11,101	11	1,522	7,2950	0,020622
	1					
Chl total/Car (estação)	1	0,031842	11	0,003489	9,127	0,011632
Chl total/Car (parasita)	1	0,028762	11	0,003489	8,245	0,015205
Chl total/Car (interação)	1	0,019671	11	0,003489	5,639	0,036851

ANEXO 9. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de *P. ovata* nas estações chuvosa e seca. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

A – Estação chuvosa

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
A _{CO2} (tratamento)	1	4,736	4	3,030	1,5632	0,279353
A _{CO2} (horário)	4	16,861	16	2,852	5,9114	0,004061
E (tratamento)	1	0,478	4	8,266	0,0578	0,821759
E (horário)	4	18,737	16	5,336	3,5113	0,030655
g _s (tratamento)	1	5,397650	1	0,113938	4,0180	0,115522
g _s (horário)	4	0,268156	16	0,019039	14,0847	0,000041
g _s (trat x hor)	4	0,120302	16	0,019039	6,3188	0,003008
EUA (tratamento)	1	0,15667	4	0,13093	1,1966	0,335456
EUA (horário)	4	1,65148	16	0,07973	20,7145	0,000004
A _{CO2} (08h)	1	18,7371	4	2,2309	8,3988	0,044203
A _{CO2} (10h)	1	1,2653	4	1,2923	0,9791	0,378436
A _{CO2} (12h)	1	3,3476	4	1,5584	2,1481	0,216624
A _{CO2} (14h)	1	4,6206	4	4,8175	0,95913	0,382858
A _{CO2} (16h)	1	0,8226	4	4,5398	0,18120	0,692245
A _{máx}	1	5,4155	4	1,7982	3,0116	0,157685
gs (08h)	1	0,526976	4	0,028530	18,4712	0,012667
gs (10h)	1	0,050232	4	0,026562	1,89107	0,241076
gs (12h)	1	0,014973	4	0,009104	1,64460	0,268970
gs (14h)	1	0,000578	4	0,029294	0,01972	0,895119
gs (16h)	1	0,002389	4	0,011022	0,21678	0,665723

B- Estação chuvosa

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
A _{CO2} (tratamento)	1	7,835	7	8,241	0,9507	0,362020
A _{CO2} (horário)	4	5,432	28	2,445	2,2213	0,092258
E (tratamento)	1	5,396	7	6,359	0,8485	0,387633
E (horário)	4	22,183	28	2,842	7,8052	0,000234
g _s (tratamento)	1	0,000613	7	0,022451	0,0273	0,873455
g _s (horário)	4	0,090129	28	0,007710	11,6906	0,000010
EUA (tratamento)	1	0,43993	8	0,38563	1,1408	0,316649
EUA (horário)	4	0,52805	32	0,13231	3,9909	0,009747
EIUA (tratamento)	1	0,03216	7	0,09894	0,3250	0,586439
EIUA (horário)	4	0,10582	28	0,01171	9,0399	0,000081

ANEXO 10. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de *D. miscolobium* na estação seca. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
A _{CO2} (tratamento)	1	4,455	8	9,090	0,4901	0,503726
A _{CO2} (horário)	4	6,601	32	2,239	2,9488	0,035042
E (tratamento)	1	0,780	8	9,364	0,0833	0,780229
E (horário)	4	12,018	32	1,293	9,2955	0,000042
g _s (tratamento)	1	0,002075	7	0,007774	0,2669	0,621320
g _s (horário)	4	2,640842	28	0,003899	677,2541	<0,000001
EIUA (tratamento)	1	1775,0	8	154,3	11,503	0,009477
EIUA (horário)	4	630,9	32	159,4	3,958	0,010136
A _{CO2} (08h)	1	3,3334	8	6,2775	0,53101	0,486964
A _{CO2} (10h)	1	3,3904	8	3,7443	0,9055	0,369172
A _{CO2} (12h)	1	2,4348	8	3,5279	0,6902	0,430206
A _{CO2} (14h)	1	11,1943	8	1,9112	5,8571	0,041840
A _{CO2} (16h)	1	0,0292	8	2,5835	0,0113	0,917915
EIUA (08h)	1	120,35	8	156,43	0,7694	0,405977
EIUA (10h)	1	190,73	8	89,93	2,1208	0,183403
EIUA (12h)	1	579,53	8	335,69	1,7264	0,225299
EIUA (14h)	1	1146,60	8	124,16	9,2352	0,016089
EIUA (16h)	1	132,05	8	85,63	1,5421	0,249475

ANEXO 11. Resultados das ANOVA's para parâmetros de trocas gasosas de *B. verbascifolia* na estação chuvosa. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
A _{CO2} (tratamento)	1	0,538	4	2,057	0,262	0,635839
A _{CO2} (horário)	4	52,936	16	3,498	15,132	0,000027
E (tratamento)	1	6,277	4	2,376	2,6414	0,179435
E (horário)	4	16,614	16	0,885	18,7726	0,000007
g _s (tratamento)	1	0,000465	4	0,019514	0,0238	0,884814
g _s (horário)	4	0,085549	16	0,014116	6,0606	0,003634
EUA (tratamento)	1	0,39980	4	0,17225	2,3210	0,202312
EUA (horário)	4	4,74624	16	0,11337	41,8658	<0,000001
EIUA (tratamento)	1	336,95	4	445,45	0,7564	0,433530
EIUA (horário)	4	828,05	16	99,76	8,3007	0,000800
A _{CO2} (08h)	1	0,9835	4	5,7966	0,1697	0,701528
A _{CO2} (10h)	1	2,043	4	1,985	1,0294	0,367686
A _{CO2} (12h)	1	0,815	4	5,130	0,1588	0,710605
A _{CO2} (14h)	1	10,1747	4	0,5681	17,911	0,013347
A _{CO2} (16h)	1	0,0009	4	2,5704	0,0004	0,985678
g _s (08h)	1	0,004510	4	0,069067	0,06529	0,810920
g _s (10h)	1	0,005322	4	0,003728	1,4277	0,298137
g _s (12h)	1	0,004475	4	0,002403	1,8623	0,244082
g _s (14h)	1	0,005593	4	0,000491	11,3887	0,027921
g _s (16h)	1	0,002175	4	0,000288	7,5609	0,051389

ANEXO 12. Resultados das ANOVA's para os valores diários de fluorescência de clorofila *a* das espécies estudadas na estação seca. Valores de p em negrito destacam diferenças significativas.

A. ANOVA's de *P. ovata*

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
Φ_{PSII} (tratamento)	1	0,017474	8	0,009642	1,8123	0,215135
Φ_{PSII} (horário)	4	0,020277	32	0,004057	4,9978	0,003034
ETR (tratamento)	1	690,4	8	1195,3	0,5776	0,469060
ETR (horário)	4	3602,3	32	1037,1	3,4733	0,018244
Φ_{NPQ} (tratamento)	1	0,02032	8	0,04201	0,4835	0,506513
Φ_{NPQ} (horário)	4	0,03579	32	0,00972	3,6813	0,014150
Φ_{NO} (tratamento)	1	0,000063	8	0,023644	0,0027	0,960006
Φ_{NO} (horário)	4	0,034635	32	0,004927	7,0303	0,000352
F_v/F_m (tratamento)	1	0,000124	8	0,009507	0,0131	0,911824
F_v/F_m (horário)	1	0,080825	8	0,0000987	31,2169	0,000518

B. ANOVA's de *D. miscolobium*

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
Φ_{PSII} (tratamento)	1	0,001957	8	0,006968	0,2808	0,610565
Φ_{PSII} (horário)	4	0,057886	32	0,004301	13,4587	0,000002
ETR (tratamento)	1	1923,8	8	1183,0	1,6262	0,238011
ETR (horário)	4	9641,7	32	1506,7	6,3994	0,000668
Φ_{NPQ} (tratamento)	1	0,009654	8	0,026145	0,3693	0,560261
Φ_{NPQ} (horário)	4	0,057783	32	0,013052	4,4273	0,005828
F_v/F_m (tratamento)	1	0,00107	8	0,00281	0,380	0,554641
F_v/F_m (horário)	1	0,00621	8	0,00072	8,616	0,018846

C. ANOVA's de *B. verbascifolia*

Parâmetro	Tratamento		Erro		F	p
	df	MS	df	MS		
ETR (tratamento)	1	182,6	8	2852,3	0,0640	0,806618
ETR (horário)	4	8166,9	32	1348,1	6,0579	0,000955
Φ_{NPQ} (tratamento)	1	0,01796	8	0,01302	1,380	0,273895
Φ_{NPQ} (horário)	4	0,02458	32	0,00696	3,534	0,016930
F_v/F_m (tratamento)	1	0,000542	8	0,008259	0,066	0,804312
F_v/F_m (horário)	1	0,029435	8	0,004464	6,594	0,033239
Φ_{NPQ} (08h)	1	0,000028	8	0,007174	0,0039	0,951510
Φ_{NPQ} (10h)	1	0,001575	8	0,009288	0,1696	0,691315
Φ_{NPQ} (12h)	1	0,001160	8	0,004761	0,2436	0,634869
Φ_{NPQ} (14h)	1	0,021019	8	0,003444	6,104	0,038677
Φ_{NPQ} (16h)	1	0,020669	8	0,016172	1,2780	0,291013