

Vitor Barão

**Relações hídricas e anatomia da relação
parasita-hospedeira entre *Psittacanthus*
robustus e *Vochysia thyrsoidea*.**

Water relations and anatomy of the host-parasite
interaction between *Psittacanthus robustus* e
Vochysia thyrsoidea.

São Paulo

2015

Vitor Barão

**Relações hídricas e anatomia da relação
parasita-hospedeira entre *Psittacanthus
robustus* e *Vochysia thyrsoidea*.**

Water relations and anatomy of the host-parasite
interaction between *Psittacanthus robustus* e
Vochysia thyrsoidea.

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para
a obtenção de Título de Mestre
em Ciências, na Área de
Botânica.

Orientador(a): Prof. Dr. Gregório
Ceccantini

Ficha Catalográfica

Barão, Vitor

Relações hídricas e anatomia da relação parasita hospedeiro entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea*.

61 páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. Arquitetura hidráulica 2. Anatomia da madeira 3. Plantas parasitas. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr.(a). Gregório Ceccantini
Orientador(a)

À professora Maria José Dias,
que me ensinou a perguntar.

(...)
deixa a seiva correr
bem devagar
o dia nasceu.
(...)

Arnaldo Antunes

Agradecimentos

Este trabalho é colaborativo, assim como a ciência e o conhecimento são por essência. No que está escrito aqui há um pouquinho de cada um com quem compartilho e compartilhei descobertas. E há também um pouquinho de cada cientista que me antecedeu. O primeiro agradecimento é, portanto, para cada pesquisador que compartilhou suas ideias ao longo dos séculos e deu corpo ao conhecimento que embasa minha pesquisa.

Grandes cientistas colaboraram com este trabalho sugerindo métodos, oferecendo possibilidades e analisando materiais. Agradeço aos doutores Hervè Cochard (França), Peter Baas (Holanda), Frederic Lens (Holanda), Georg Von Arx (Suíça), John Sperry (EUA).

Agradeço muito ao Prof. Dr. Rafael de Oliveira (UNICAMP) pelo apoio durante todo o trabalho. Com ele e seus alunos Cleiton, Paulo e Fernanda, descobri pares altamente colaborativos que me ajudaram a entender problemas, métodos e possibilidades. O laboratório do Prof. Dr. Rafael de Oliveira e o LAFIECO, do Prof. Dr. Marcos Buckeridge, cooperaram ativamente com o trabalho desde o início, disponibilizando dezenas de milhares de reais em equipamentos para as coletas em campo, com treinamento e suporte.

Diversas plataformas colaborativas foram usadas, agradeço aos criadores, mantenedores e colaboradores dos projetos PrometheusWiki, Roxas, Cria, Fiji, ImageJ, Mendeley, DetWeb e Coffitivity.

Agradeço a todos os amigos que colaboraram de maneiras variadas. Em especial à Tutty, Nathy e Eric pelo apoio brutal em uma expedição muito difícil, ao Giu e a Nara pelo apoio sempre presente, discussões e sugestões, à Gisele, Tássia, Paula, Waldir, Berthi, Rob e Fer pelo apoio técnico nos laboratórios.

Muito obrigado à todos os professores que colaboraram com material, suporte e sugestões: Prof. Dra. Verônica Angyalossy, Prof. Dr. Sérgio Tadeu, Prof. Dr. Diego Demarco, Prof. Dr. Gilberto Kerbauy, Prof. Dr. Sérgio Rosso.

Agradeço ao amigo Marcelo Pacce, que além de me ensinar italiano durante um congresso, notou um equívoco durante uma conversa de almoço que mudou o rumo desta pesquisa e originou o capítulo 1 desta dissertação.

Este projeto teve apoio institucional de diversas fontes. Agradeço à USP, IB-USP, IB-UNICAMP, Naturalis, CNPq, Capes, FAPESP, IAWA, ICMBio, Parque Nacional da Serra do Cipó.

Plácido produziu cortes em semanas que pouparam anos de trabalho, e Milena ajudou com muitas análises em muito pouco tempo, duplicando os números amostrais de alguns experimentos. Carol, Cairo, André, Júlio e Sr. Antônio compartilharam comigo muito conhecimento. Muito obrigado!

Agradeço também a todos que apoiaram emocionalmente o desenvolvimento deste projeto: todos os meus amigos, minha família e minha doce companheira Nadira.

Muito obrigado ao meu pai, que me fez as primeiras perguntas, e a minha mãe, que apoia minhas pesquisas desde a minha primeira lente de aumento.

Por fim, agradeço ao Prof. Dr. Gregório Ceccantini, orientador, amigo e ídolo que tem se empenhado por minha

formação ampla e sólida há mais de 5 anos. Muito obrigado por todas as oportunidades, conselhos, discussões, e leituras de última hora, inclusive durante as noites chuvosas de domingo.

ÍNDICE

Introdução Geral	10
Capítulo 1. Anatomia da conexão hidráulica entre <i>Psittacanthus robustus</i> e <i>Vochysia thyrsoidea</i> .	14
Resumo	14
Introdução	15
Materiais e Métodos	17
Resultados	20
Discussão	28
Conclusões	36
Bibliografia	36
Capítulo 2. Influências da hemiparasita <i>Psittacanthus robustus</i> na forma e função das árvores hospedeiras <i>Vochysia thyrsoidea</i> .	38
Resumo	38
Introdução	39
Materiais e Métodos	40
Resultados	47
Discussão	52
Conclusões	55
Bibliografia	55
Discussão Geral e Conclusões	57
Resumo	60
Abstract	61

INTRODUÇÃO GERAL

A disponibilidade de água é um fator limitante para plantas terrestres e condiciona sua distribuição em diversos ambientes. Isso porque estes organismos obtêm carbono do meio através de trocas gasosas que, inevitavelmente, causam perda de água. Os estômatos regulam a conectividade da planta com a atmosfera balanceando obtenção de dióxido de carbono e perda de água. A obtenção e a regulação hídrica estão, dessa forma, intimamente relacionadas com a aquisição e fixação de carbono, e consequentemente ao crescimento e às demais funções metabólicas.

O sucesso das espécies nos ambientes depende de sua capacidade de manter o status hídrico das folhas suficientemente alto para que os estômatos possam se abrir, permitindo a difusão de CO₂ para o mesófilo e assim taxas fotossintéticas favoráveis. Elas dependem, para isso, da eficiência da reposição da água perdida nas folhas, que é feita por um complexo sistema hidráulico que se estende por todo o corpo da planta. Ele proporciona transporte de seiva rápido e de baixa resistência, por meio de uma rede interconectada de elementos condutores do xilema (i.e. vasos e traqueídes) (SPERRY, 2003). Esta rede promove o transporte de água e nutrientes por meio de fluxo de massa, que soma, ao longo de todo o corpo da planta, aproximadamente apenas 50% da resistência total ao fluxo, sendo o restante relacionado a curtíssimos trechos entre a superfície das raízes e o estelo, e entre as terminações dos vasos no mesófilo das folhas e as aberturas estomáticas (NARDINI; SALLEO; JANSEN, 2011).

Estes níveis de eficiência no transporte de água se devem ao ajuste preciso das características estruturais de todas as partes envolvidas no funcionamento dos sistemas hidráulicos, de acordo com as características específicas de fluxo, pressão e vulnerabilidade, que decorrem da interação do organismo com o ambiente e de suas estratégias ecofisiológicas.

Os ajustes se dão de três formas: i) ao longo da evolução, com seleção de características favoráveis; ii), ao longo da vida dos indivíduos, que podem regular as propriedades do xilema dentro de limites de plasticidade durante a formação de novas camadas de xilema pelo cambium; iii) e a curto prazo, pela

modificação rápida e temporária de propriedades do sistema em resposta a variações na composição da seiva (NARDINI et al., 2012).

As particularidades do sistema hidráulico de cada espécie, e possivelmente de cada indivíduo, são resultado de uma demanda conflitante entre eficiência de transporte de seiva, segurança contra embolismos e suporte mecânico, que por sua vez é regida pelas interações entre a planta – com sua plasticidade herdada - e o ambiente. Por estes motivos a arquitetura hidráulica (conjunto de características e propriedades do sistema hidráulico (CRUIZIAT; COCHARD; AMÉGLIO, 2002) varia amplamente entre espécies e habitats diferentes (BADEL et al., 2015).

Estes sistemas, embora abertos em um contínuo entre o solo e atmosfera, possuem unidade e funcionam como circuitos coesos formados pela conexão de partes compatíveis. A integração das partes se dá pelo ajuste estrutural e pela coordenação realizada na porção distal do sistema, pelos estômatos. Eles gerenciam o sistema através do controle da demanda e da tensão das colunas de seiva, com base em alças de feedback relacionadas à hidratação dos tecidos, eficiência do uso da água e limites fenotípicos de pressão.

Nesse contexto, tornam-se especialmente interessantes os casos em que se formam sistemas hidráulicos híbridos. É o caso de relações estabelecidas com a instalação de plantas hemiparasitas, que possuem haustórios conectando funcionalmente seu xilema ao da hospedeira. Dentre os diversos grupos de ervas de passarinho há vários modos de conexão com diferentes tipos de haustório (MATHIASSEN et al., 2008), mas em todos eles forma-se um sistema hidráulico híbrido e contínuo, formado por sistemas com estrutura e funcionamento diferentes.

O gênero de hemiparasitas *Psittacanthus* possui haustórios com as maiores galhas já descritas e copas de grandes dimensões (KUIJT; LYE, 2005). Estas plantas muitas vezes se associam a hospedeiros pequenos, compondo situações interessantes em que o sistema hidráulico da parasita tem dimensão equivalente ou superior ao da hospedeira. Além disso, nessas plantas com grandes áreas foliares, a influência do seu comportamento

hídrico é, provavelmente, de grande impacto para o status do sistema como um todo.

BELL & ADAMS (2011) revisaram recentemente a literatura sobre forma e função de sistemas parasita-hospedeiro, e destacaram diversos trabalhos em que observa-se influência da parasita na forma e no funcionamento da hospedeira, com modificações anatômicas do xilema dos galhos parasitados (MEINZER; WOODRUFF; SHAW, 2004).

O objetivo deste trabalho é analisar em conjunto forma e função da associação entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea* para testar hipóteses e propor explicações sobre um sistema hidráulico híbrido extremo. No CAPÍTULO 1 estudou-se em detalhe a estrutura da conexão, que envolve o haustório e os sistemas vasculares das duas plantas, e no CAPÍTULO 2 foi feita uma análise funcional da relação, empregando diversos experimentos de arquitetura hidráulica *in situ* e *ex situ* para obter os parâmetros do sistema híbrido formado.

BIBLIOGRAFIA

BADEL, E. et al. Acclimation of mechanical and hydraulic functions in trees: impact of the thigmomorphogenetic process. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. April, p. 1–12, 2015.

BELL, T. L.; ADAMS, M. A. Attack on all fronts: functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. **Tree physiology**, v. 31, n. 1, p. 3–15, jan. 2011.

CRUIZIAT, P.; COCHARD, H.; AMÉGLIO, T. Hydraulic architecture of trees : main concepts and results. **Ann. For. Sci.**, v. 59, p. 723–752, 2002.

KUIJT, J.; LYE, D. Gross xylem structure of the interface of *Psittacanthus ramiflorus* (Loranthaceae) with its hosts and with a hyperparasite. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 147, n. 2, p. 197–201, fev. 2005.

MATHIASSEN, R. L. et al. Mistletoes: Pathology, Systematics, Ecology, and Management. **Plant Disease**, v. 92, n. 7, p. 988–1006, 2008.

MEINZER, F. C.; WOODRUFF, D. R.; SHAW, D. C. Integrated responses of hydraulic architecture , water and carbon relations of western hemlock to dwarf mistletoe infection. **Plant, Cell & Environment**, v. 27, p. 937–946, 2004.

NARDINI, A. et al. Ion-mediated enhancement of xylem hydraulic conductivity in four Acer species: relationships with ecological and anatomical features. **Tree physiology**, p. 1–8, 8 nov. 2012.

NARDINI, A.; SALLESO, S.; JANSEN, S. More than just a vulnerable pipeline: xylem physiology in the light of ion-mediated regulation of plant water transport. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 14, p. 4701–18, out. 2011.

SPERRY, J. S. EVOLUTION OF WATER TRANSPORT AND XYLEM STRUCTURE. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, p. 115–127, 2003.

CAPÍTULO 1

Anatomia da conexão hidráulica entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea*.

RESUMO

Sistemas hidráulicos de plantas são complexos e integrados. Situações de parasitismo por ervas de passarinho tornam-se interessantes nesse contexto pois representam a fusão funcional de dois sistemas fechados com propriedades distintas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura de um par parasita-hospedeira para testar a hipótese de que a conexão entre plantas diferentes é promovida por alterações morfoanatômicas que adaptam e conformam o sistema à condição híbrida. Foram empregados métodos de anatomia da madeira e de arquitetura hidráulica em exemplares de *Psittacanthus robustus* parasitando *Vochysia thyrsoidea*. Foram observadas alterações morfoanatômicas no corpo das duas plantas favoráveis à conexão hidráulica. A interpretação dos tecidos haustoriais foi atualizada em relação a literatura e foi descoberta uma nova estrutura no corpo da parasita provavelmente envolvida com a manutenção da conexão hidráulica. Discute-se esta estrutura em conjunto com modificações observadas como possíveis demonstrações do papel de auxina no desenvolvimento do xilema.

INTRODUÇÃO

Plantas parasitas são organismos que se conectam à outras plantas, das quais obtém água e nutrientes. Mas definir estas plantas com precisão só é possível utilizando um órgão comum e exclusivo, por definição, a todas as parasitas: o haustório. E assim, na definição mais aceita atualmente de KUIJT (1969) plantas parasitas são aquelas que se conectam à outras plantas através de uma ponte fisiológica e estrutural, o haustório.

O haustório é um órgão complexo que compreende diferentes tecidos e tem grande variação entre os grupos de parasitas e hemiparasitas (MATHIASSEN et al., 2008) . Embora ainda não se tenha clareza sobre a homologia dos haustórios, sabe-se que são análogos à raízes, promovendo o intermédio entre as plantas e o substrato que, neste caso, corresponde às hospedeiras (CALVIN; WILSON, 2006).

Entre as parasitas há muitas formas de haustórios conhecidas, variando muito quanto à organização e o modo de conexão. *Struthanthus martianus* (Loranthaceae), por exemplo, possui múltiplos haustórios organizados com um sistema complexo de digestão e penetração do caule das hospedeiras, que cresce no interior do corpo da planta em direção à vasos condutores do xilema, aos quais se conecta lateralmente para aquisição de seiva xilemática (VENTURELLI, 1980).

Por outro lado, no gênero *Psittacanthus*, pertencente a mesma família, os haustórios são muito diferentes. Há apenas um haustório único, de grandes proporções, com modos de conexão distintos (KUIJT; LYE, 2005). Os modos de conexão de cada linhagem podem ter valor filogenético importante e considerar as características desses sistemas de forma integrada pode ajudar a solucionar problemas persistentes de posicionamento taxonômico nos grupos de hemiparasitas (CALVIN; WILSON, 2006; MATHIASSEN et al., 2008).

Ainda se conhece muito pouco sobre a estrutura e o funcionamento dos diversos haustórios existentes, apesar deles serem de grande importância para o entendimento da biologia e ecofisiologia das plantas parasitas. Eles

também apresentam grande potencial para o desenvolvimento de métodos de controle de espécies agressivas e danosas para o homem e o ambiente.

Entender como se fundem sistemas pressurizados, altamente especializados, é interessante para a compreensão geral do funcionamento dos sistemas de condução de água e balanço hídrico em plantas.

KUIJT & LYE (2005) estudaram e descreveram a estrutura das galhas formadas pela hemiparasita *Psittacanthus ramiflorus*, com atenção especial para o xilema. Mas este trabalho não se aprofundou na histologia das estruturas nem na anatomia da conexão entre as plantas. Apesar disso, e mesmo sem analisar características do sistema hidráulico, esse trabalho evidenciou que nesse gênero de Loranthaceae ocorrem grandes modificações na região de contato entre as plantas.

O objetivo deste trabalho é investigar as características de um sistema hidráulico híbrido em condições de baixa disponibilidade hídrica. Para isso estudou-se a estrutura anatômica do sistema hidráulico e da conexão entre uma erva de passarinho de grande porte e uma espécie hospedeira arbustiva de porte moderado, em condições ambientais estressantes de baixa disponibilidade de água e alto poder evaporativo atmosférico.

Com os resultados será testada a hipótese de que a formação de um sistema hidráulico híbrido em condições estressantes é possível devido à reorganização dos sistemas envolvidos e adaptação à situação híbrida.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras da hemiparasita *Psittacanthus robustus* (Mart.) Marloth. (Loranthaceae), instalada em árvores hospedeiras de *Vochysia thyrsoidea* Pohl (Vochysiaceae) (FIGURA 1A,B), na região da APA Morro da Pedreira, Serra do Cipó, MG (FIGURA 1C). A região, com altitudes acima de 1100 metros, é caracterizada por solos quartzíticos arenosos e rasos, que condicionam a fitofisionomia de Campo Rupestre (formação do bioma Cerrado), e possui grande abundância desta erva de passarinho que, nesta região, tem como principal hospedeiro *V. thyrsoidea*, também muito frequente na paisagem.

Foram coletadas amostras de madeira das parasitas e das hospedeiras, bem como galhas inteiras (FIGURA 1D,E) e segmentos da região de contato. Parte das réplicas foi fixada imediatamente sob vácuo em Karnowsky e o restante seco lentamente ao ar.

Neste trabalho, nomeamos *galhas* os órgãos presentes na conexão entre as duas plantas, resultados da fusão de tecidos das hospedeiras e das parasitas, que sofrem hiperplasia formando grandes massas de tecido quimérico (TEIXEIRA-COSTA; CECCANTINI, 2015). Nessas galhas estão os haustórios, órgãos exclusivamente parasíticos responsáveis pela conexão mecânica e fisiológica ao hospedeiro (KUIJT, 1969).

Algumas galhas (3) foram submetidas à injeção de corantes logo após a coleta. Perfundiu-se solução filtrada de safranina (0,1%) e KCl (10 mmol) em água deionizada por um dos ramos da parasita (UMEBAYASHI et al., 2007). A este ramo foi acoplada coluna de corante de 1m, que foi mantida até que a solução saísse em abundância por ao menos um das terminações abertas do caule da hospedeira. A seguir as galhas foram cortadas em diferentes planos (transversal, frontal, sagital) e polidas segundo a metodologia a seguir.

Macroscopia

Para análise macroscópica foram polidos segmentos de madeira seca da parasita, hospedeira e galhas. As amostras foram polidas por lixamento com lixas progressivamente mais finas (200 a 2000). A partir da lixa 1000 o

procedimento foi realizado submerso em tanque de água para polimento mais uniforme e dispersão dos resíduos. Após o polimento foram tomadas imagens fotográficas com secagem apenas superficial.

As galhas frescas injetadas com corantes foram submetidas ao mesmo procedimento, porém tratadas sob água em todo o processo devido à fragilidade dos tecidos.

Microscopia

Amostras fixadas de madeira da parasita, hospedeira e de regiões de contato foram cortadas histologicamente em micrótomo de deslize. Quando necessário (especialmente nas regiões frágeis de contato) optou-se pelo método de BARBOSA et al. (2010), com inclusão em polietilenoglicol e corte com suporte de resina acrílica e fita adesiva. Os cortes foram processados para dupla coloração (safranina-azul de Astra) e montados em bálsamo do Canadá. As lâminas foram fotografadas por câmeras digitais acopladas à microscópio óptico (Leica Microsystems, Alemanha) e confocal LSM400 (Zeiss, Alemanha) com laser de 488nm filtrado por LP515 e laser de 543 filtrado por LP570.

Cortes transversais das duas espécies foram submetidos ao sistema semiautomático de medições Roxas (VON ARX; DIETZ, 2005) para quantificação de propriedades anatômicas da madeira. Foram medidos áreas de vasos, densidades e agrupamentos de vasos.

Nos haustórios há grande quantidade de grânulos de dois tipos, um disperso pelo caule e outro concentrado na zona de contato. A composição celular destes corpos foi investigada por maceração em solução de Franklin (KRAUS; ARDUIM, 1997) e observação em microscopia de luz.

Ultraestrutura

As pontoações das duas espécies foram analisadas em micrografias eletrônicas de varredura, obtidas em microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo JEM1010 (Jeol, Korea), no instituto Naturalis, Holanda. O material foi obtido por cisalhamento de segmentos de madeira fixada.

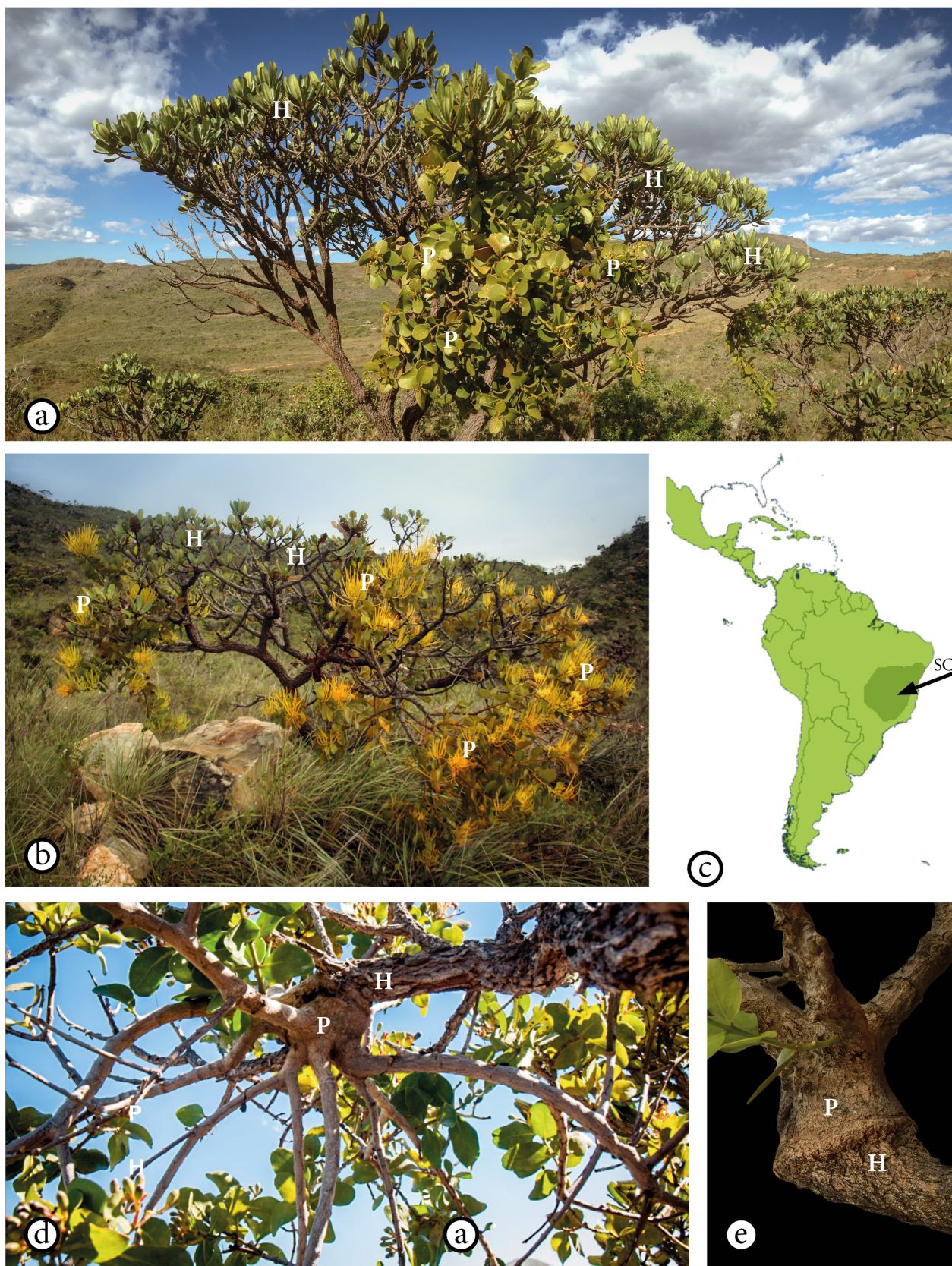


figura 1: Aspectos gerais de parasita (P) e hospedeira (H), distribuição geográfica e galhas. A e B- vista geral de *Vochysia thyrsoidea* parasitada por *Psittacanthus robustus* (em primeiro plano em A e florido em B). C- Distribuição geográfica de *P. robustus* e local de coleta na Serra do Cipó (SC). D- Aspecto da galha não terminal *in situ* na árvore. E- Detalhe de galha terminal com porções de parasita e hospedeira distintas.

RESULTADOS

O sistema estudado é constituído por dois conjuntos hidráulicos conectados. Eles pertencem a cada uma das plantas envolvidas (parasita e hospedeira) e diferem muito quanto às características morfoanatômicas da madeira.

TABELA 1: Comparação de características anatômicas da madeira de *V. thyrsoidea* e *P. robustus*.

	área média de vasos μm	Fração de vasos agrupados %	número médio de vasos por grupo	densidade média de vasos $\text{vasos}\cdot\text{mm}^{-2}$	Pontoações guarnecidas	matriz predominante
<i>V. thyrsoidea</i> (hospedeiro)	7859,08	0,56	2,2	10,71	NÃO	parênquima
<i>P. robustus</i> (parasita)	1071,77	0,99	18,0	102,12	SIM	fibras

MADEIRA DA HOSPEDEIRA

A organização da madeira de *Vochysia thyrsoidea* é baseada em parênquima axial abundante, que em alguns casos chega a ser mais volumoso que as fibras (FIGURA 2A), constituindo a matriz do xilema secundário, em séries axiais de até três células. Ele se apresenta em faixas largas e, em algumas regiões, aliforme linear com grandes confluências. Os vasos tem porosidade difusa e são solitários ou agrupados em múltiplos de até cinco. As placas de perfuração são sempre simples e as pontoações intervasculares são alternas, areoladas, e guarnecidas. Os guarnecimentos são arbusculares e podem formar um estrato contínuo na parede interna dos vasos (FIGURA 2G). As fibras tem paredes muito espessas e pontoações com bordas de aréolas muito diminutas. Os raios são grandes com até cinco células de largura e até quinze células de altura, frequentemente confluentes axialmente (FIGURA 2C,E). Os raios são compostos de células procumbentes, quadradas e eretas dispostas aleatoriamente.

MADEIRA DA PARASITA

O xilema secundário dessas plantas é composto por vasos de pequeno calibre (FIGURA 2B) agrupados em grandes cachos (5 a 15 vasos), isolados uns dos outros por densas camadas de fibras com paredes muito espessas. Além disso, esses cachos são circundados por parênquima axial e radial. Os vasos se conectam por placas de perfuração exclusivamente simples e por pontoações areoladas com câmaras rasas e canais estreitos e longos (FIGURA 2H). Enquanto o parênquima axial é escasso e difuso ao redor dos cachos de vasos, os raios são largos (3-6 células de largura) e altos, compostos exclusivamente por células procumbentes (FIGURA 2D,F).

Na região haustorial o caule da parasita sofre pronunciado intumescimento, resultante majoritariamente de crescimento secundário do xilema. Nessa região a anatomia da madeira mantém o padrão descrito, mas sofre algumas modificações:

ALARGAMENTO DE RAIOS

Embora o alargamento do haustório resulte de crescimento secundário regular, na região basal destes órgãos são formados raios parenquimáticos progressivamente mais largos e mais abundantes (FIGURA 3). Assim, há no local uma matriz parenquimática permeada por uma malha condutora constituída pelo conjunto de elementos axiais, que alternadamente se divide, contorna os raios, e se anastomosa (FIGURA 3C,I).

MANTOS CONCENTRICOS

Nesta região também se formam mantos concêntricos, cônicos, que envolvem camadas de xilema secundário, como descritos por KUIJT & LYE (2005). Estes mantos, visíveis em polimentos transversais (FIGURA 3G,H) como faixas escuras, são formados por parênquima axial abundante (FIGURA 3H) e massas pétreas de astro esclereides (FIGURA 5D,G).

CONEXÃO DOS SISTEMAS

Na região de contato entre as duas plantas forma-se uma galha: um órgão quimérico composto pelo haustório da parasita e por tecidos

entumecidos da hospedeira. No par de espécies estudado as galhas podem ter mais de 15cm de diâmetro, onde não se observa intrusão de tecidos parasíticos na hospedeira nem a presença de tecido parenquimático. Forma-se uma fronteira estreita e nítida entre as plantas na região de contato, que é delimitada por tecido xilemático da hospedeira em contato direto com o xilema da parasita (FIGURA 4C). Nessa região observa-se o direcionamento do xilema da hospedeira à parasita: ele sofre um desvio do plano axial para o radial, de forma que os elementos condutores se conectam frontalmente com os da parasita (FIGURA 4^A). Os experimentos de injeção de corantes revelam que os elementos que sofrem torção na hospedeira são ligados funcionalmente ao sistema hidráulico da erva de passarinho, enquanto o restante do caule aparenta isolamento hidráulico e mantém sua orientação axial típica (FIGURA 4B).

O sistema condutor de *Psittacanthus robustus* sofre dilatação com adição de parênquima, de forma que a malha de elementos axiais torna-se progressivamente mais frouxa em direção a área de contato (FIGURA 4E). A terminação deste sistema se conecta à hospedeira por meio de ampolas vasculares: pequenos e frequentes bulbos dilatados, presentes na periferia do haustório, em contato com o xilema da hospedeira (FIGURA 4C, 5B,C). Em comparação ao caule, o haustório apresenta maior concentração de massas pétreas: sua abundância chega à ser semelhante àquela do parênquima. Juntos, parênquima e massas pétreas, preenchem completamente os espaços entre a malha condutora.

Na região de contato entre parasita e hospedeira há parênquima xilemático abundante nas duas plantas, e alta densidade de elementos condutores. A parasita apresenta massas pétreas frequentes, compostas por astro esclereides que, frequentemente, possuem cristais (FIGURA 5D,G). Seu parênquima se distingue facilmente do da hospedeira por apresentar grandes núcleos e paredes pouco lignificadas, no qual estão imersas as ampolas vasculares. Estas estruturas, descritas pela primeira vez neste trabalho, formam as terminações da malha hidráulica de *P. robustus* e a conectam aos vasos da hospedeira através de placas de perfuração simples (FIGURA 5E,F). As ampolas podem ser simples ou ramificadas, possuem bulbos

proximais dilatados que estreitam em direção ao contato (FIGURA 5B,C), e são formadas exclusivamente por elementos de vaso de tamanho reduzido, formato variado - frequentemente curvo ou torcido- e múltiplas placas de perfuração simples (2-4, frequentemente 3) em posições aparentemente randômicas (FIGURA 5H,I).

Na interface entre as duas plantas cada ampola (ou complexo de ampolas) se conecta à um único vaso da hospedeira de forma frontal ou ligeiramente oblíqua (FIGURA 5E,F). A diferença notável de tamanho e formato entre as pontuações de *P. robustus* e *V. thyrsoides* possibilita a identificação dos correspondentes elementos de vaso no caminho contínuo formado na zona de contato.

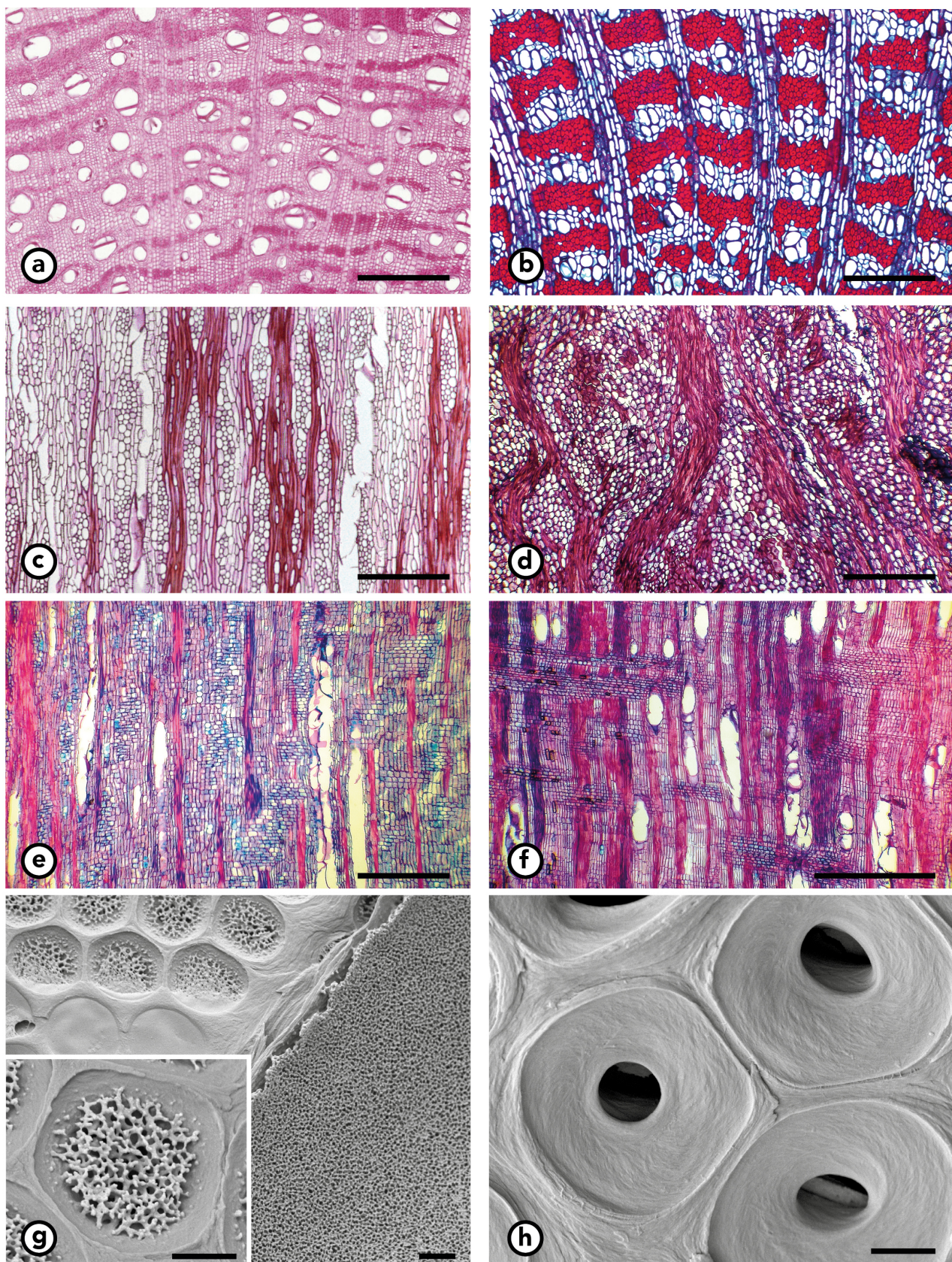


figura 2: Características anatômicas da madeira. Esquerda: *P. robustus*; Direita: *V. thyrsoides*. A,B- Transversal, escala: 0,5mm; C,D- Radial, escala: 0,5mm; E,F- Tangencial, escala: 0,5mm; G,H- Eletromicrografia de pontoações. escala: 2 μ m.

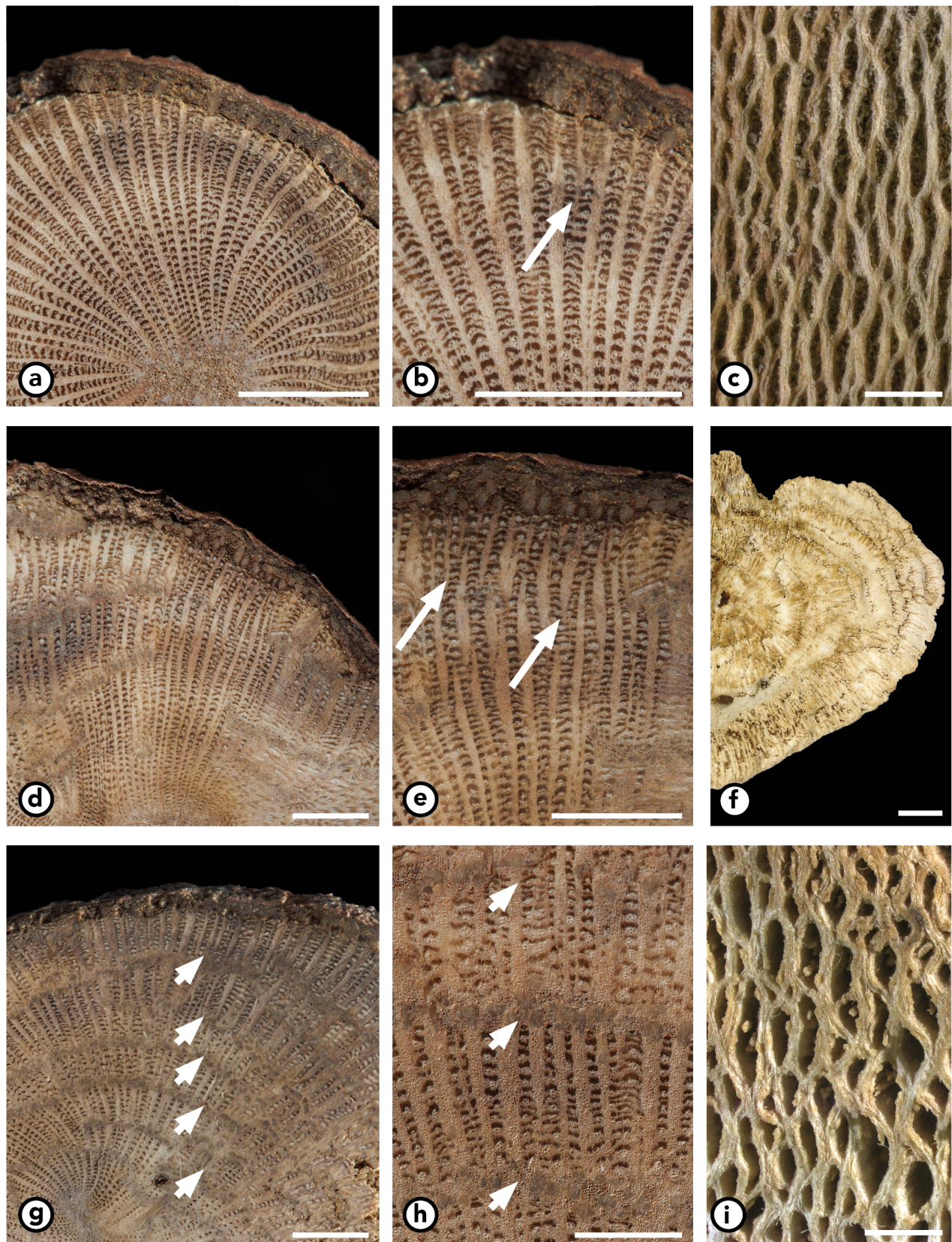


figura 3: Macrografias do haustório de *P. robustus*. Macrografias após polimento (A,B,D,E,G,H) e diafanização (C,I) obtidas em porção proximal, mediana e distal do haustório (F). As imagens evidenciam o alargamento de raios parenquimáticos em direção à região proximal, o surgimento de novos raios (E; setas), e a presença de mantos concêntricos formados por parenquima axial e massas pétreas de astroescleídes (G, H; setas). escala: A,B,D,E,G,H: 5mm, C,I: 2mm, F: 1cm

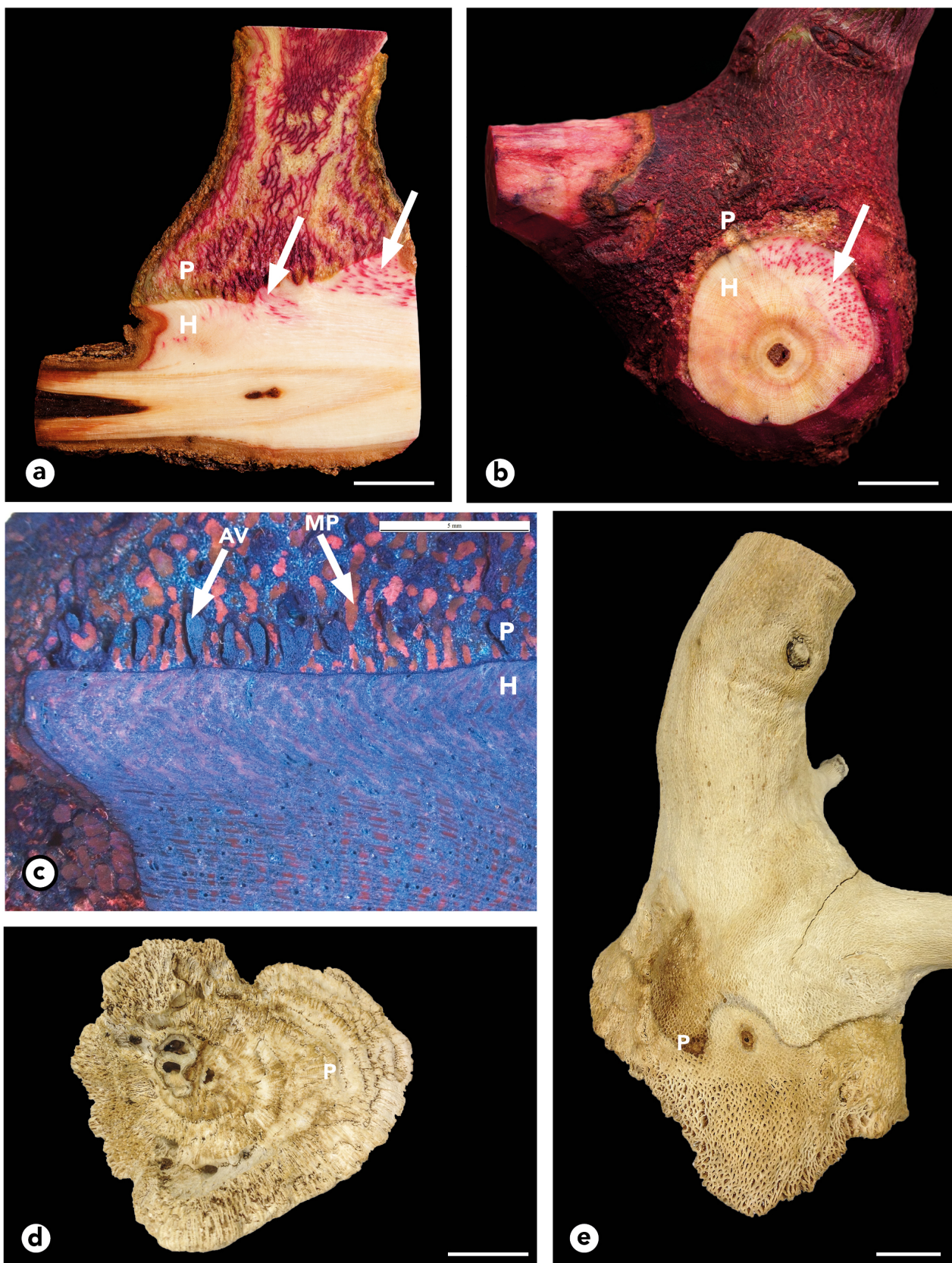


figura 4: Conexões vasculares parasita-hospedeira na região de interface da galha. A,B - injeção de safranina pelo caule da parasita: A- Interface parasita-hospedeira, com vasos corados direcionados para a parasita. B- vasos da hospedeira que estão funcionalmente conectados à parasita. C- Macrografia após lixamento e coloração, com ampolas vasculares AV (azul) alternadas por massas pétreas de astroclereides MP (vermelho) no haustório da parasita. D,E- Caule e região haustorial da parasita sem casca e diafanizados. D- vista proximal da região de conexão da parasita vista pela face da hospedeira. Escala A,B,D,E: 2cm, C: 5mm.

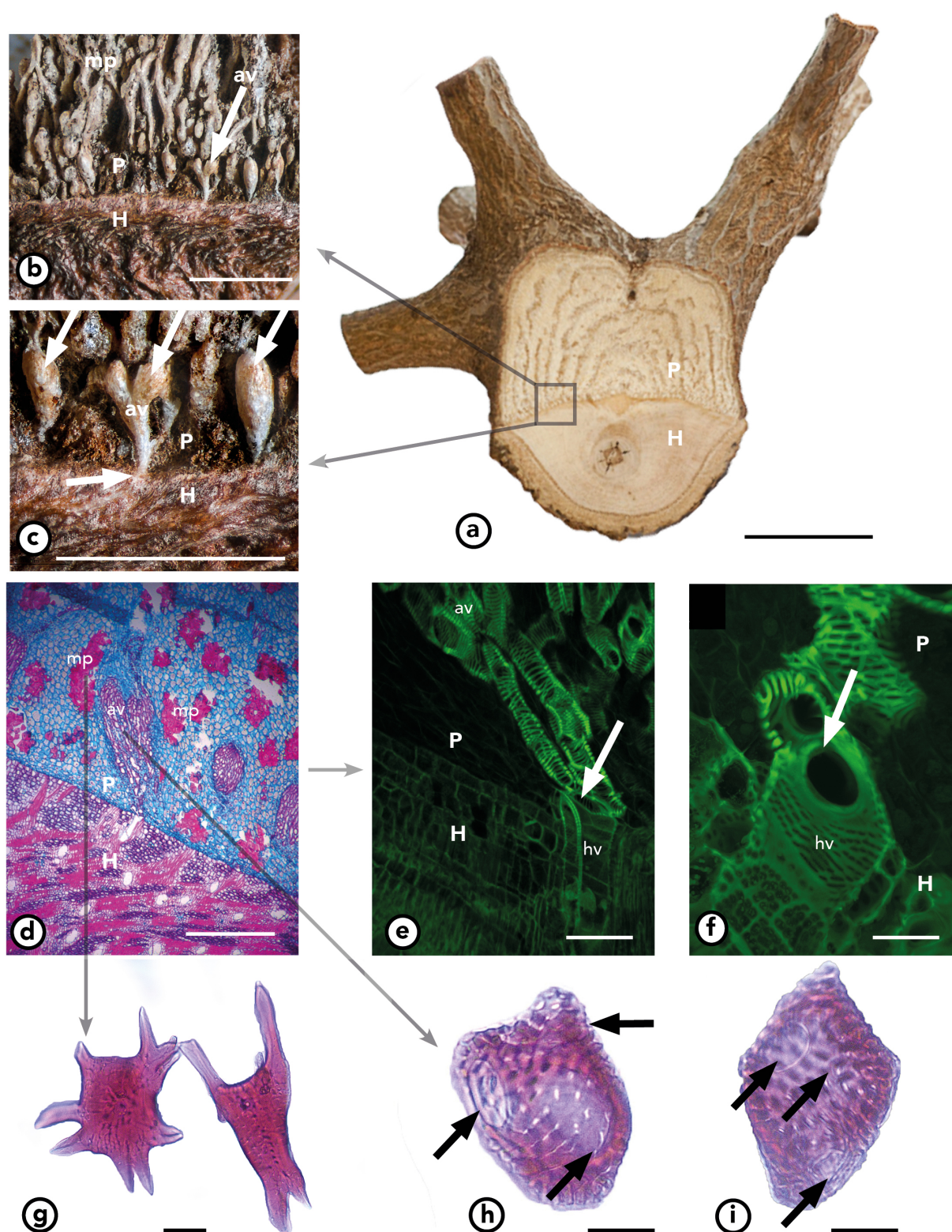


figura 5: Estrutura anatômica da conexão entre parasita e hospedeira. A. Galha em corte transversal ao caule da hospedeira e longitudinal ao haustório da parasita. B. Região de conexão vascular com ampolas vasculares (seta), e massas pétreas (mp). B- Detalhe de ampolas vasculares e conexão parasita hospedeira. C- corte histológico da região de contato, com ampolas vasculares (av) e massas pétreas (mp). D, E- micrografias confocais da região de conexão vascular, com ampolas vasculares (av) conectadas à elementos de vaso de *V. thyrsoides* (hv) por meio de placas de perfuração simples (setas). F- astrosclereídes que compoem as massas pétreas, obtidas por maceração. G, H- elementos de vaso que compoem as ampolas vasculares, pequenos, deformados e com múltiplas placas de perfuração. Escalas: A-5cm; B,C-2mm; D-1mm; E-50100µm; F,G,H,I-50µm.

DISCUSSÃO

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DA MADEIRA

A organização do sistema vascular de *P. robustos* é semelhante ao padrão geral encontrado em Loranthaceae, mas é muito peculiar em relação às demais plantas lenhosas. O sistema hidráulico aparentemente possui, ao mesmo tempo, propriedades relacionadas à eficiência de condução de seiva e a segurança contra embolismos: os grandes cachos de vasos oferecem alta redundância e eficiência no transporte axial, enquanto o diâmetro reduzido dos vasos condiciona segurança contra a formação de embolismos (WHEELER et al., 2005).

Por fim, o isolamento dos grupos de vasos por camadas de fibras espessas garante compartimentalização do sistema e proteção contra o espalhamento de bolhas de gás (JACOBSEN et al., 2005). O padrão anatômico do xilema destas parasitas une as vantagens de sistemas seguros baseados no isolamento de vasos solitários, com a eficiência de sistemas com alta redundância e grande área condutora. Por este motivo, nomeamos este padrão “*Best of Both Pattern*” (padrão anatômico BOB), em que o tradicional *tradeoff* entre segurança e eficiência é desacoplado.

Adicionalmente, nestas plantas há uma camada de parênquima vasicêntrico, possibilitando alta eficiência no processo de *refilling* (NARDINI; LO GULLO; SALLEO, 2011)

Estas características podem explicar a capacidade dessas plantas se manterem hidratadas em condições de baixa disponibilidade de água, já que sempre competem por este recurso com as copas de suas hospedeiras. As altas taxas transpiratórias observadas nessas ervas de passarinho, mesmo em situações de baixos potenciais hídricos, indicam tolerância a condições hídricas extremas, provavelmente em decorrência de um sistema hidráulico especializado no transporte de grandes quantidades de seiva sob pressões muito negativas.

Plantas desta espécie são capazes de se conectar funcionalmente à hospedeiras com madeira frequentemente muito distinta da sua em forma e função.

V. thyrsoides é um exemplo, com madeira baseada em um padrão anatômico distinto e características anatômico-funcionais diferentes: a abundância de parênquima confluyente nessa espécie chega a formar uma matriz parenquimática contínua, onde estão imersos vasos solitários ou pouco agrupados (grupos de 1-3) e faixas de fibras com paredes de espessura média. Há densas camadas de guarnecimento revestindo o interior das câmaras de pontoações e as paredes internas dos vasos. Essas estruturas hidrofóbicas, formadas frequentemente por lignina (JANSEN et al., 2013), são comuns nas pontoações de diversas espécies e parecem ter grande importância para o funcionamento do sistema hidráulico. A principal hipótese é de que apoiam as membranas de pontoações permitindo que resistam a tensões elevadas, e adicionalmente aprisionam e repelem bolhas de gás. Em algumas espécies observa-se a formação de guarnições na região externa adjacente as pontoações, mas o extrato contínuo e conspícuo observado em *V. thyrsoides* é uma novidade. Embora aumente a resistência do sistema ao fluxo de seiva, o extrato de guarnições pode ser vantajoso para o controle de embolismos e *refilling*: sua natureza porosa e hidrofóbica pode ao mesmo tempo aprisionar bolhas e facilitar o processo de dissolução durante o processo de reversão de embolismos, reduzindo a coesão entre os meniscos e as paredes dos vasos. Essa característica pode conferir à *V. Thyrsoides* resiliência que favorece a manutenção de sistemas com parasitas. Isso pode explicar porque nessas plantas o parasitismo parece não ter efeito deletério.

ANATOMIA DO HAUSTÓRIO

O haustório de *P. robustus* é muito semelhante ao de *Psittacanthus ramiflorus* descrito por (KUIJT; LYE, 2005), no entanto nossas interpretações sobre a natureza e origem dos tecidos diverge. Observando polimentos progressivamente mais basais no haustório, nota-se que o intumescimento do órgão se dá por crescimento secundário regular do caule, através da ação do cambio. O órgão é composto majoritariamente por xilema secundário, que é caracterizado pela presença de raios parenquimáticos. Estes raios são mais largos e mais abundantes nas camadas mais externas da madeira,

como ocorre frequentemente em muitas outras plantas, chegando a confluir e formar uma matriz em conjunto com o parênquima axial. O aumento da quantidade de parênquima em relação aos outros tecidos provoca a ilusão de um “órgão formado por células parenquimáticas em que se estendem cordões vasculares” (KUIJT; LYE, 2005) quando, na verdade, trata-se de um tecido vascular secundário composto por elementos condutores ligados em uma malha frouxa permeada por parênquima abundante.

Entender o haustório de *P. robustos* dessa forma facilita a compreensão sobre sua origem e evolução: fica claro que os haustórios dessa planta são apenas modificações caulinares resultantes de ação cambial pronunciada e não órgãos exclusivos de plantas parasitas, neoformados, com homologia desconhecida e estrutura anatômica peculiar, como proposto atualmente na literatura.

AMPOLAS VASCULARES

Outro aspecto original de nossas observações refere-se às ampolas vasculares. Essas estruturas, presentes em todas as terminações vasculares dos haustórios e descritas pela primeira vez neste trabalho, podem ter grande importância na manutenção da conexão hidráulica e no status hídrico de ambas as plantas, parasita e hospedeira.

Propomos aqui hipóteses sobre o funcionamento das estruturas descritas com base em suas características anatômicas e analogias com outros sistemas hidráulicos e biofísicos (CRUIZIAT; COCHARD; AMÉGLIO, 2002; ZIMMERMAN; TYREE, 2002)

As ampolas provavelmente formam complexos de proteção hidráulica com funções combinadas de capacitores e disjuntores: são compartimentos capazes de armazenar seiva sob tensão, que pode ser disponibilizada pelo mecanismo de *air-seedling* (ZIMMERMAN; TYREE, 2002) em situações de tensão crítica (próxima ao limite hidráulico do sistema) (URLI et al., 2013). Dessa forma, as ampolas podem aumentar a capacitância hidráulica da conexão entre as plantas, amortecendo o acoplamento entre os sistemas e reservando água para a parasita em momentos de alta demanda, preservando a conectividade hidráulica com a hospedeira.

Além disso, podem ter função de disjuntores de proteção: em potenciais hídricos extremos, quando as colunas de seiva começariam a romper em todo o corpo da planta iniciando um processo crítico de embolização, as ampolas podem favorecer a ruptura concentrada das colunas no local, com relaxamento da tensão e proteção ao restante do sistema. Com embolismos concentrados nessas regiões, cercadas de parênquima, com alta redundância e elementos de vaso de pequenas dimensões, o processo de refilling poderia ser muito mais rápido e eficiente. Além disso, este sistema pode proteger as valiosas conexões com a hospedeira, dependentes de vasos únicos que, se embolizadas, podem não voltar à funcionalidade. Com as ampolas, as parasitas podem concentrar em seu corpo a responsabilidade pela manutenção do status hídrico da conexão, bem como do reparo dos possíveis embolismos.

SISTEMA HIDRÁULICO MISTO

Sistemas hidráulicos de plantas são compostos por muitas partes com propriedades específicas, otimizadas evolutivamente, que condicionam o funcionamento e as peculiaridades de cada planta. O caso analisado neste trabalho, no entanto, representa um sistema misto, composto por dois compartimentos (a parasita e a hospedeira) com propriedades muito diferentes, conectados por um único ponto, mas ainda assim contínuos em um único sistema aberto entre o solo e a atmosfera. Esta integração entre dois sistemas com forma e funcionamento distintos representa um desafio para a manutenção da homeostase hídrica das partes e do todo.

A principal regulação hidráulica em plantas vasculares se dá nos estômatos das folhas, que por mecanismos de *feedback* controlam todo o funcionamento do sistema hidráulico (JOHNSON et al., 2011). O sistema parasita-hospedeiro torna-se especialmente complicado pois o corpo da hospedeira passa a ter dois sistemas de controle hidráulico diferentes: o das suas folhas, e o das folhas da parasita.

A conexão entre estes dois módulos diferentes é possível, neste caso, devido à reorganização de tecidos. O xilema da planta hospedeira se reorganiza ao longo de seu crescimento em espessura, de forma que parte

dos elementos axiais é desviado em direção à parasita (FIGURA 6^A). Na parasita também ocorrem mudanças: alargamento do caule, aumento da abundância de parênquima e afrouxamento da rede de elementos condutores. A formação das ampolas vasculares na interface com o hospedeiro representa a formação de estruturas exclusivas especializadas no intermédio dos sistemas.

A FIGURA 6C ilustra o sistema a que nos referimos com o emprego da analogia elétrica, utilizada frequentemente no estudo de arquitetura hidráulica (CRUIZIAT; COCHARD; AMÉGLIO, 2002; ZIMMERMAN; TYREE, 2002). Nela estão representados todos os componentes do sistema de forma integrada.

CONEXÃO MEDIADA POR AUXINA

ALONI (2014) interpretou recentemente a conexão vascular entre uma planta hemiparasita e sua hospedeira, por meio de placas de perfuração, como uma evidência da ação da auxina no desenvolvimento do xilema em um sistema contínuo entre as duas plantas. O autor considera que essa conexão só é possível com diferenciação da hospedeira induzida por auxinas da parasita. Com o presente trabalho estendemos esta interpretação e fornecemos novas evidências mais robustas, oriundas de um sistema semelhante, mas onde, aparentemente, os efeitos da auxina são muito mais pronunciados e notáveis.

Assim como nas observações de ALONI (2014) em *Loranthus acaciae* e *Acaciae raddiana*, os vasos de *P. robustus* se conectam por placas de perfuração aos vasos de *V. thyrsoidea* formando um sistema condutor contínuo. Mais do que isso, neste caso os elementos de vaso se conectam frontalmente em decorrência de reorganização e direcionamento dos elementos axiais da hospedeira. Essa diferenciação, vista sob a luz da hipótese de Aloni, dá peso à proposta de indução de alterações na hospedeira por intermédio de hormônios da parasita.

Adicionalmente, a formação das ampolas vasculares pode reforçar a importância das auxinas segundo nossa hipótese:

HIPÓTESE DA ORIGEM E FORMAÇÃO DAS AMPOLAS VASCULARES

A hipótese é ilustrada pela FIGURA 6B, que representa três momentos consecutivos de diferenciação de tecidos.

Em um cenário hipotético onde não há conexões funcionais da parasita com a hospedeira (i.e. no início da instalação ou durante o crescimento de novas camadas do haustório), a auxina produzida por suas folhas é direcionada ativamente, por transporte polar, à base do haustório. Na região próxima ao contato com a hospedeira o transporte polar cessa e o hormônio se acumula, promovendo a rápida diferenciação de tecido vascular. Em alta concentração, a auxina condiciona a diferenciação exclusiva de xilema (ALONI, 2014). Nos locais de acúmulo do hormônio, muitos elementos de vaso se formam reunidos, originando as ampolas vasculares. Dessa região a auxina flui mais lentamente por difusão para o corpo da hospedeira, onde promove a formação de uma nova via de transporte polar, segundo a hipótese da canalização (SACHS, 1981 Apud ALONI, 2014). Em decorrência, ocorre o direcionamento e a diferenciação de um novo ramo de elementos condutores na hospedeira, entre os elementos axiais normais e o haustório da parasita.

Assim que o primeiro vaso completo é diferenciado em contato com a ampola, se inicia o transporte massivo de seiva xilemática, diluindo a auxina concentrada e interrompendo o processo de formação de tecido vascular. Isso explicaria a recorrência de conexões entre vasos únicos da hospedeira e ampolas vasculares amplamente ramificadas das parasitas.

As características do sistema vascular do haustório -muito ramificado, com elementos de vaso curtos e de pequeno calibre- e das ampolas vasculares - formadas por elementos de vaso diminutos, deformados e com múltiplas placas de perfuração- coincidem com as características esperadas para tecidos vasculares formados sob alta concentração de auxina, o que apoia a hipótese que propomos para a formação desta conexão vascular.

Dessa forma, este sistema com que trabalhamos pode ser usado como um modelo para estudos experimentais da ação da auxina do desenvolvimento e diferenciação do sistema vascular, pois trata-se,

provavelmente, de uma situação de injeção de IAA em uma região caulinar distante das folhas.

É necessário ainda, no entanto, dosar as concentrações de auxinas em diversos estágios de desenvolvimento dos tecidos da galha, para que se confirme a diferenciação mediada pelo hormônio.

MODOS DE CONEXÃO PARASITA-HOSPEDEIRA

O modo de conexão varia muito entre as plantas hemiparasitas, mesmo entre as mais proximamente relacionadas. Em Loranthaceae, por exemplo, há ao menos 3 tipos de conexão: 1. intrusão da hospedeira pela parasita, que digere tecidos e direciona um órgão sugador aos vasos xilemáticos (e.g. *Struthanthus vulgaris*; (VENTURELLI, 1980)); 2. contato com reorganização do xilema da hospedeira (*Psittacanthus ramiflorus*; (KUIJT; LYE, 2005)); 3. contato mediado por ampolas vasculares, com reorganização da hospedeira (*Psittacanthus robustus*).

Há diferenças significativas, especialmente entre 1 e 3, que variam completamente o modo de infestação, de invasão agressiva à manipulação e ajuste.

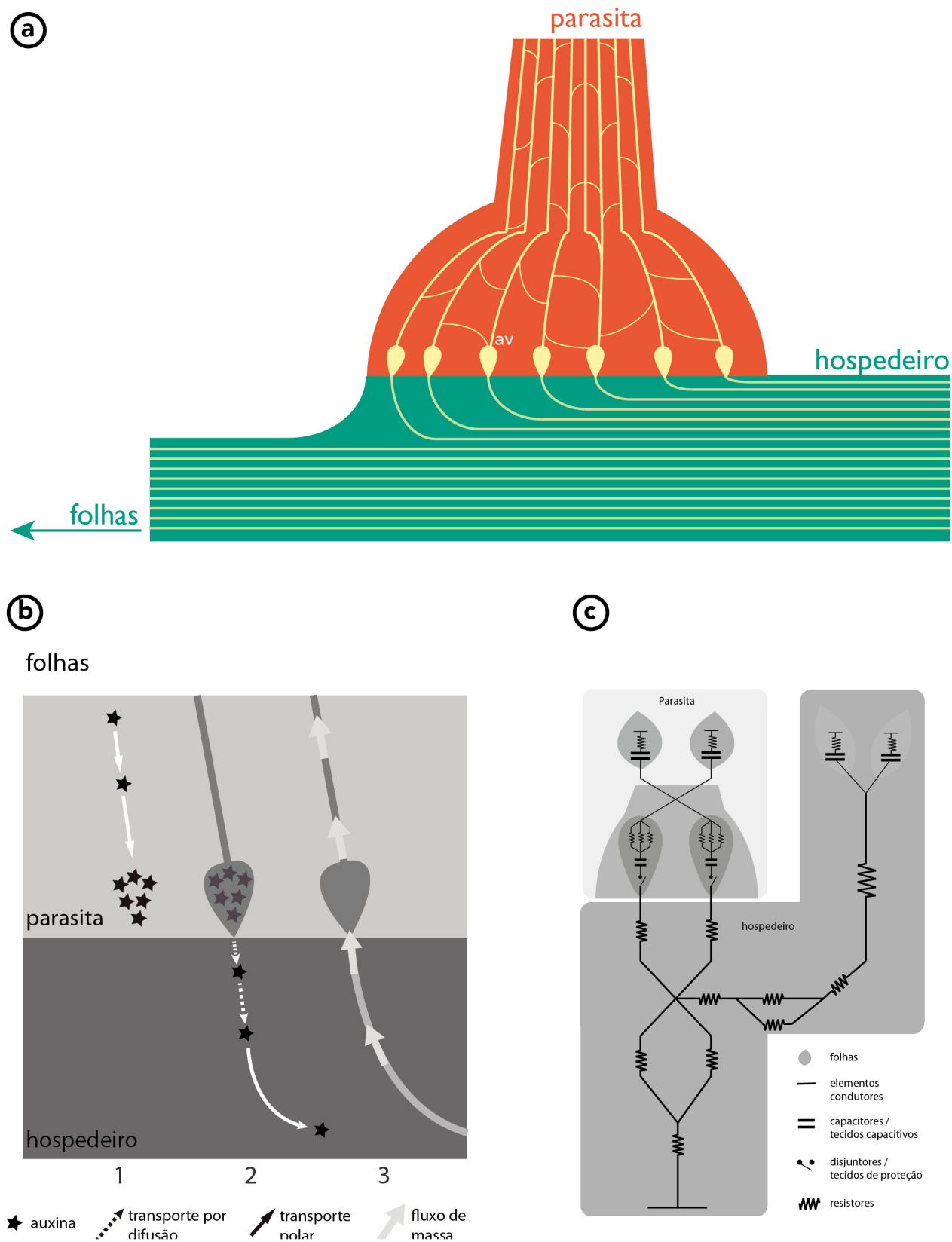


figura 6: Esquemas sobre o sistema parasita-hospedeiro. A. Esquema da organização vascular das galhas e do direcionamento do xilema da hospedeira para o contato. B. Esquema da hipótese de formação das ampolas vasculares por influência de auxina em três momentos sequenciais, 1,2 e 3. C. Representação do sistema parasita hospedeira por analogia elétrica com os componentes principais do sistema.

CONCLUSÕES

O sistema hidráulico híbrido formado entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea* é possível mediante grandes transformações nas duas plantas, que aumentam sua compatibilidade e promovem a conexão dos sistemas. No caso estudado as duas plantas sofrem alterações que beneficiam a manutenção da conexão dos sistemas, embora não se conheçam ainda os mecanismos indutores destas transformações.

BIBLIOGRAFIA

- ALONI, R. Ecophysiological implications of vascular differentiation and plant evolution. **Trees**, 15 ago. 2014.
- BARBOSA, A. C. F. et al. A new method to obtain good anatomical slides of heterogeneous plant parts. **IAWA Journal**, v. 31, n. 4, p. 373–383, 2010.
- CALVIN, C. L.; WILSON, C. A. Comparative morphology of epicortical roots in Old and New World Loranthaceae with reference to root types, origin, patterns of longitudinal extension and potential for clonal growth. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 201, n. 1, p. 51–64, 2006.
- CRUIZIAT, P.; COCHARD, H.; AMÉGLIO, T. Hydraulic architecture of trees : main concepts and results. **Ann. For. Sci.**, v. 59, p. 723–752, 2002.
- JACOBSEN, A. L. et al. Do Xylem Fibers Affect Vessel Cavitation Resistance ?. **Plant physiology**, v. 139, n. September, p. 546–556, 2005.
- JANSEN, S. et al. Vestured Pits: Do They Promote Safer Water Transport? **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, n. 3, p. 405–413, 2013.
- JOHNSON, D. M. et al. Hydraulic patterns and safety margins, from stem to stomata, in three eastern U.S. tree species. **Tree physiology**, v. 31, n. 6, p. 659–68, jun. 2011.
- KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- KUIJT, J. **The biology of parasitic flowering plants**. Berkeley e Los Angeles: University of California Press, 1969.
- KUIJT, J.; LYE, D. Gross xylem structure of the interface of *Psittacanthus ramiflorus* (Loranthaceae) with its hosts and with a hyperparasite. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 147, n. 2, p. 197–201, fev. 2005.

MATHIASSEN, R. L. et al. Mistletoes: Pathology, Systematics, Ecology, and Management. **Plant Disease**, v. 92, n. 7, p. 988–1006, 2008.

NARDINI, A.; LO GULLO, M. A.; SALLEO, S. Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading? **Plant science : an international journal of experimental plant biology**, v. 180, n. 4, p. 604–11, abr. 2011.

TEIXEIRA-COSTA, L.; CECCANTINI, G. Embolism increase and anatomical modification caused by plant parasitism: *Phoradendron crassifolium* on *Tapirira guianensis*. **IAWA Journal**, 2015.

UMEBAYASHI, T. et al. Optimal conditions for visualizing water-conducting pathways in a living tree by the dye injection method. **Tree physiology**, v. 27, n. 7, p. 993–9, jul. 2007.

URLI, M. et al. Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. **Tree physiology**, p. 672–683, 8 maio 2013.

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

VON ARX, G.; DIETZ, H. AUTOMATED IMAGE ANALYSIS OF ANNUAL RINGS IN THE ROOTS. **International Journal of Plant Sciences**, v. 166, n. 5, p. 723–732, 2005.

WHEELER, J. K. et al. Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, n. 6, p. 800–812, jun. 2005.

ZIMMERMAN, M. H.; TYREE, M. T. **Xylem structure and the ascent of sap**. 2. ed. Berlin: [s.n.].

Capítulo 2

Influências da hemiparasita *Psittacanthus robustus* na forma e função das árvores hospedeiras *Vochysia thyrsoidea*.

Resumo

Psittacanthus robustus é uma hemiparasita com copa larga, numerosas folhas e alta condutância estomática. Por isso essas plantas frequentemente adquirem potenciais hídricos muito negativos e provavelmente representam uma fonte de sobrecarga hidráulica para ramos de árvores hospedeiras de *Vochysia thyrsoidea*. O objetivo deste trabalho foi avaliar propriedades de forma e função da relação parasita-hospedeiro para testar a hipótese de que a instalação da parasita provoca sobrecarga e acarreta alterações morfoanatômicas e funcionais nos galhos da hospedeira. Foram empregados métodos de anatomia da madeira e de arquitetura hidráulica. Observou-se que galhos parasitados sofrem stress hídrico e apresentam potenciais hídricos mais baixos do que galhos não parasitados. No entanto tornam-se mais eficientes no transporte de seiva, o que se explica por alterações anatômicas do sistema relacionadas à redução de resistências. Hipóteses são propostas sobre o funcionamento da associação entre as duas plantas e a resposta inusitada ao parasitismo.

Introdução

Plantas hemiparasitas podem afetar as plantas que infestam de diversas maneiras. Essas plantas apresentam, em geral, altas taxas de transpiração, potenciais hídricos baixos e eficiência do uso da água menor do que o de suas hospedeiras (BELL; ADAMS, 2011) o que pode gerar uma demanda excessiva do sistema hidráulico das plantas infestadas por desviar parte da corrente transpiratória para suas folhas (SCHULZE; TURNER; GLATZEL, 1984). WATLING & PRESS (2001) apontam que ervas de passarinho (hemiparasitas) provocam redução da fotossíntese das hospedeiras e assim, de seu crescimento. O modo como essa interferência ocorre varia entre as espécies, segundo os autores, mas pode ser dar pela redução de disponibilidade de água na hospedeira, alterações na arquitetura da copa, ou ainda por impactos diretos no metabolismo da hospedeira. A competição por água entre a copa da parasita e da hospedeira pode não ser problemática na estação chuvosa, mas na estação seca pode afetar profundamente a hospedeira (PRESS; GRAVES; STEWART, 1990).

Trabalhos como o de MEINZER, WOODRUFF, & SHAW (2004) mostram que a infestação por hemiparasitas pode provocar alterações morfológicas e fisiológicas nas hospedeiras, como por exemplo a redução da sua capacidade de condução de água e a queda do potencial hídrico do xilema (MATHIASSEN et al., 2008).

Em alguns casos notam-se respostas das plantas parasitadas relacionadas à redução dos efeitos negativos da infestação como o aumento da capacidade máxima de transporte de água em ramos parasitados (TENNAKOON & PATE, 1996) a redução de área foliar (MEINZER et al., 2004) e o aumento da quantidade de raízes (GARCÍA-FRANCO; LÓPEZ-PORTILLO; ÁNGELES, 2007).

Este trabalho propõe uma abordagem integrada entre as características anatômicas e funcionais da interação entre um par parasita e hospedeira, a fim de compreender a relação entre essas plantas e fornecer um modelo de sobrecarga para a área de estudo da Arquitetura Hidráulica.

Material e Métodos

As análises de forma e função foram conduzidas em uma comunidade de plantas localizada em uma região de Cerrado *stricto sensu* (FIGURA 7B) nas imediações do Parque Nacional da Serra do Cipó e da APA Morro da Pedreira (FIGURA 7C). Essa região pertence à formação da cadeia do espinhaço e possui fitofisionomias típicas de Cerrado, como cerradão e cerrado *stricto sensu* (predominante nos locais de coleta) e campos rupestres. O clima é marcado por uma estação chuvosa que se estende de setembro a abril e uma estação seca entre maio e agosto (FIGURA 7E). Além disso, em altitudes próximas a 1100 metros a área é exposta ao vento frequente e as plantas que o habitam enfrentam elevados índices de déficit de pressão de vapor durante todo o ano: na estação chuvosa as altas temperaturas aumentam o potencial evaporativo do ar, enquanto na estação seca é a baixa umidade responsável pelo ar secante.

Nesta comunidade as populações de árvores hospedeiras *Vochysia thyrsoidea* Pohl (Vochysiaceae) e hemiparasitas *Psittacanthus robustus* (Mart.) Marloth. (Loranthaceae), tem grande frequência, com ocorrências muito concentradas. As hospedeiras são muito frequentes na paisagem, e delas a maioria é parasitada por, ao menos, um indivíduo desta erva de passarinho de grande porte (FIGURA 7A).

Foram empregados métodos de anatomia e de fisiologia vegetal para elucidar as propriedades dessa associação e avaliar os efeitos das plantas parasitas sobre suas hospedeiras. Foram sempre comparados ramos das seguintes situações: NP- ramos de árvores sem parasitas; HP- ramos com parasitas instalados; HNP- ramos sem parasitas de árvores parasitadas (situação intermediária); e PS- ramos de plantas parasitas. (FIGURA 8)

Potenciais Hídricos

Quatro ramos de cada grupo experimental (HP, HNP, NP, PS), em indivíduos diferentes, tiveram seus potenciais hídricos estimados ao longo de

três dias ensolarados, a cada 3 horas entre as 4h e as 19h. Para as medidas, duas folhas saudáveis e completamente expandidas de cada ramo foram ensacadas com alumínio, com ao menos 15 minutos de antecedência e removidas por corte seco no pecíolo. O potencial hídrico de cada folha foi medido com o uso de câmara de pressão (PMS Instrument Company: USA), e a média das duas folhas foi considerada como o valor de potencial hídrico do ramo para o horário. O procedimento foi realizado no final da estação seca (agosto de 2013) e no final da estação chuvosa (março de 2014).

Condutâncias Estomáticas

Simultaneamente ao procedimento anterior, avaliou-se a condutância estomática de folhas dos mesmos ramos amostrados para potenciais hídricos. A cada horário, após as medias de potenciais hídricos, duas folhas de cada ramo foram analisadas com um porômetro (AP4, Delta-T Devices: USA) até a estabilidade das medidas de condutância de vapor de água. Nos casos em que as duas folhas diferiram em mais de 50%, analisou-se uma terceira folha. As medidas foram realizadas apenas na estação chuvosa, durante três dias ensolarados.

Condutância Hidráulica

Avaliou-se a condutância hidráulica (K) dos ramos de *V. Thyrsoides* durante quatro dias de coleta na estação chuvosa de 2014, através da coleta de dados de 6 ramos HP, 4 HNP e 4 NP.

A capacidade de condução de seiva dos ramos, inversa à resistência ao fluxo, foi estimada pelo método adaptado de KOLB & SPERRY (1999a), segundo a seguinte fórmula:

$$K=e/U$$

Onde K é condutância hidráulica, e é fluxo de seiva, e U é a diferença de potencial entre o solo e as folhas. O fluxo de seiva foi inferido pela evapotranspiração do ramo, acessada por amostragem com um porômetro (AP4, Delta-T Devices) e extrapolada considerando a área transpiratória total. Para estimar o potencial hídrico do solo (especificamente da rizosfera acessada por indivíduos de *V. thyrsoides*), foram medidos potenciais hídricos de folhas de 3 árvores não parasitadas no mesmo local e sob as mesmas

condições edáficas durante o *predown* (entre 4h e 5h) que antecedeu cada dia de coleta.

Características anatômicas da madeira

Corpos de prova foram coletados de galhos parasitados (HP), galhos não parasitados de árvores infestadas (HNP), galhos de plantas não parasitadas (NP) e de plantas parasitas (PS). A madeira foi seca ao ar, amolecida por fervura em solução de glicerina 50% e seccionada em micrótomo de deslize.

As lâminas obtidas foram digitalizadas por scanner de alta resolução SCN400 (Leica Microsystem, Alemanha). Cortes transversais foram analisadas pelo sistema semiautomático ROXAS (VON ARX; DIETZ, 2005), segundo parâmetros calibrados manualmente, para medidas de propriedades anatômicas relacionadas ao funcionamento do sistema vascular (LENS et al., 2011). As análises foram realizadas sempre nas camadas mais externas do xilema, correspondentes a aproximadamente metade da espessura dos galhos, de forma a reduzir a influência da madeira formada antes da instalação do parasita. Foram quantificados: Condutividade hidráulica teórica total e específica (K_h e K_s , estimados a partir da área transversal dos lumes dos vasos), D_h (diâmetro hidráulico médio, sensu KOLB & SPERRY (1999b)) densidade de vasos, fração de vasos solitários (VSF) e número de vasos por grupo (GSGV) (VON ARX; KUEFFER; FONTI, 2013) em 12 amostras NP, 8 HNP e 8 HP.

Além disso, mediu-se P_f (fração das paredes intervasculares ocupada por membranas de pontoações) e a espessura das paredes intervasculares em imagens de cortes tangenciais e transversais, respectivamente, com o uso do software ImageJ (RASBAND, 1997). Para P_f foi medida uma parede intervascular com ao menos 50 pontoações para cada amostra: 10 NP, 7HP e 4 HNP, e para a espessura das paredes intervasculares foram medidas 50 paredes duplas de ramos NP e 50 de ramos HP.

TABELA 1 – Siglas utilizadas para variáveis analisadas e situações amostrais, definições, e unidades.

Sigla	Definição	Unidade
Pf	Fração de pontoações	%
Dh	Diâmetro Hidráulico médio	μm
GSGV	Número de vasos por grupo	--
VSF	Fração de vasos solitários	%
K	Condutância hidráulica	$\text{mmol.s}^{-1}.\text{Mpa}^{-1}$
Ks	Condutividade hidráulica específica	$\text{Kg.m}^{-1}.\text{Mpa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
Wt	Espessura da parede intervascular	μm
HP	Ramos parasitados	--
HNP	Ramos não parasitados de árvores parasitadas	--
NP	Ramos de árvores não parasitadas	--
PS	Ramos da planta parasita	--
VPD	Déficit de pressão de vapor	kPa
Predown	Período que antecede o início da transpiração e queda de potencial hídricos, entre 4h e 5h.	--
Midday	Período de pico de potenciais hídricos e VPD, entre 12h e 14h.	--
ψ	Potencial hídrico	bar ou MPa

Membranas de pontoações

Para avaliação da espessura média de membranas de pontoações intervasculares, amostras de madeira foram analisadas em microscopia eletrônica de transmissão.

Amostras de madeira de três galhos HP e de três galhos NP (de indivíduos diferentes) foram coletadas e imediatamente fixadas em Karnovsky sob vácuo. Realizou-se a pós-fixação com Tetróxido de Ósmio (OsO_4), tratamento de contraste com acetato de uranila e emblocamento em Epon. O material foi cortado em ultra micrótomo Leica EM UC7 (Leica

Microsystem, Alemanha) com espessura de 100nm, em plano transversal às paredes intervasculares. Os cortes foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo e observados sob microscópio eletrônico de transmissão (Jeol, Korea) (JANSEN *et al.*, 2011; LENS *et al.*, 2011). As espessuras das membranas das pontoações de HP e NP foram comparadas por meio de mensurações feitas a partir das imagens com o software ImageJ (RASBAND, 1997). Foram analisadas ao menos 10 pontoações por indivíduo, totalizando 30 observações para galhos HP e 30 para galhos NP.

Para todas as variáveis analisadas compararam-se as médias das situações (NP, HP, HNP, PS) e as diferenças foram testadas através de testes t de Student entre todos os pares. Nos casos em que não foi possível atingir normalidade utilizou-se o teste não paramétrico Wilcoxon para cada par. Sempre foi considerado alfa de 5%.

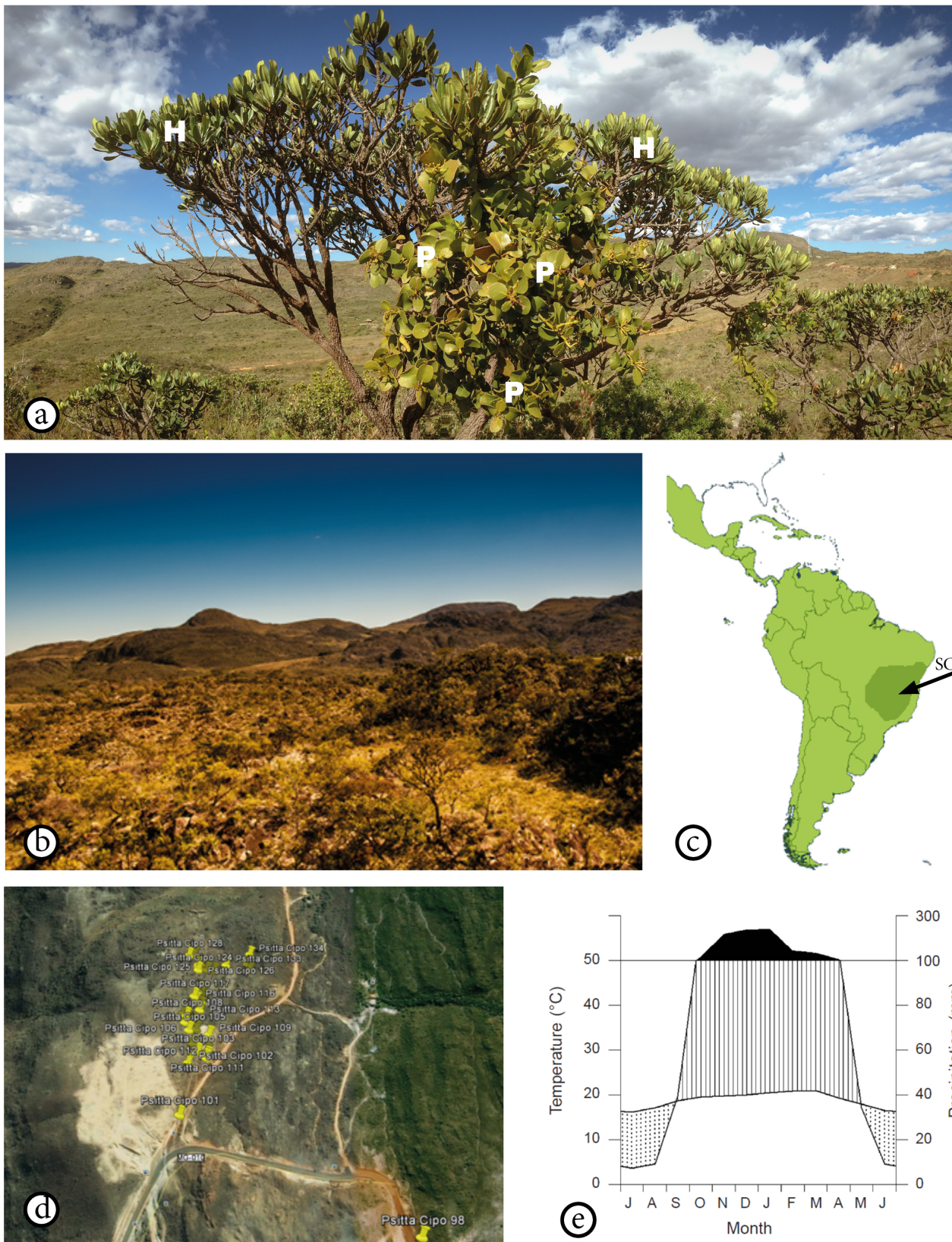


figura 7: Aspectos gerais de parasita (P) e hospedeira (H), e local de coleta. A. *Vochysia thyrsoidea* (H) parasitada por *Psittacanthus robustus* (P). B. Local de coleta, caracterizado por fisionomia de Cerrado *stricto sensu*. C. Localização da Serra do Cipó e distribuição das espécies estudadas (verde escuro). D. Área experimental com grande densidade de indivíduos de *V. thyrsoidea*. E. Climadiagrama da região das coletas.

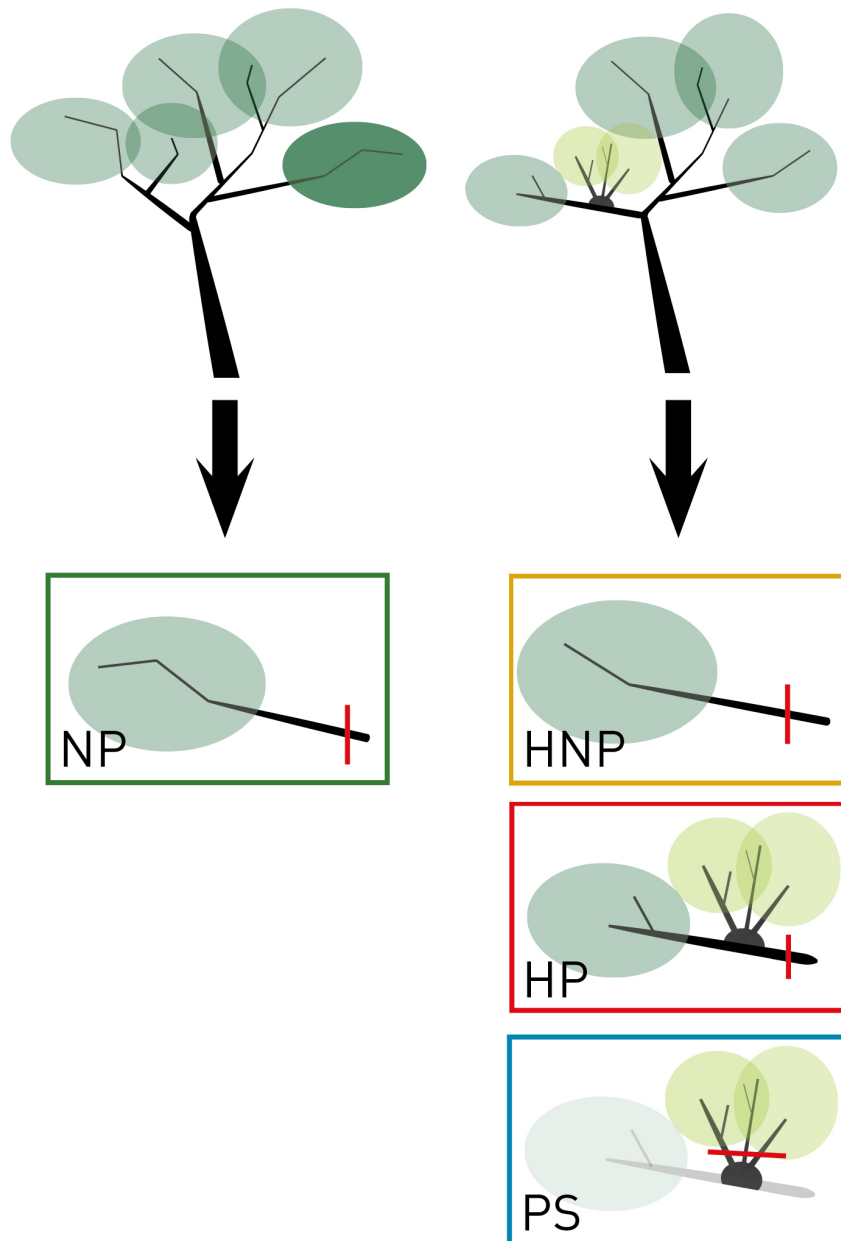


figura 8: Situações experimentais. NP: Galhos de árvores não parasitadas; HNP: galhos não parasitados de árvores com parasitas; HP: galhos parasitados; PS: galhos de plantas parasitas.

Resultados

Potenciais hídricos

Os potenciais hídricos das quatro situações analisadas variam de forma semelhante, inclusive entre as estações. Suas magnitudes, no entanto são bem diferentes (FIGURA 9A,B).

Nas duas estações climáticas o potencial hídrico permanece abaixo de zero mesmo durante o *predown*. Pouco antes do amanhecer os potenciais de todos os ramos sofrem acentuada queda, que se mantém até o *midday*. A partir deste horário os ramos passam a sofrer reidratação lenta e gradual, atingindo valores basais somente após o anoitecer. Entre as 19h e o *predown* observa-se rebaixamento dos potenciais hídricos de todas as situações experimentais.

Não há diferença estatística entre os valores de potenciais hídricos no *midday* para as estações seca e chuvosa, em nenhuma das situações analisadas. No entanto, nas duas estações os potenciais das plantas parasitas (PS) foram significativamente mais extremos do que dos ramos NP no horário de maior dessecação (i.e. *midday*, por volta de 13h). Na estação chuvosa os ramos HP também atingem potenciais significativamente mais extremos do que ramos NP (TABELA 2).

Condutância estomática

Assim como os potenciais hídricos, a condutância foliar aumenta pronunciadamente quando o ambiente começa a receber luz solar em todos os ramos analisados. O aumento se mantém para todos as situações experimentais até o *midday*, quando a condutância começa a cair. No momento de pico, a condutância de folhas das plantas parasitas (PS) é mais de 35% maior do que a de folhas de ramos não parasitados (NP e HNP). Os ramos HP, por outro lado, apresentam condutância significativamente inferior aos ramos livres de parasitas (FIGURA 9C).

Condutância hidráulica

Ramos HP apresentaram condutância hidráulica substancialmente maior do que os controles (NP), enquanto os ramos HNP tem condutância mais baixa do que eles (TABELA 2, FIGURA 9D). No entanto as diferenças de potencial hídrico a que estão submetidos todos os galhos são muito semelhantes.

TABELA 2 – Comparação entre potenciais hídricos (ψ) medidos ao meio dia nas estações seca e chuvosa, e condutância estomática (K) para as quatro situações experimentais. Letras diferentes indicam diferença estatística para cada variável com alfa de 0,05.

	ψ midday seca bar	ψ midday chuvosa bar	K estomática chuvosa $\text{mmol.s}^{-1}.\text{Mpa}^{-1}$
NP	6,98 A	6,29 A	455,68 A
HNP	8,35 AB	9,37 B	294,81 A
HP	6,98 AB	10,21 B	207,92 B
PS	9,6 B	10,81 B	734,71 C

Características anatômicas

Galhos parasitados (HP) de *Vochysia thyrsoidea* possuem modificações na estrutura anatômica do xilema. Embora várias características relacionadas ao funcionamento do sistema hidráulico se mantenham (TABELA 3), como VD, VSF, Ks, Dh e Pf, outras sofrem alterações de magnitude. GSGV e Wt apresentam valores diferentes nesses galhos: os ramos HP tem grupos de vasos com mais elementos condutores e as paredes entre estes vasos são em média 10% mais finas do que as presentes em ramos NP (FIGURA 9E,F, 10C,D).

Além disso, as pontoações intervasculares que conectam vasos agrupados apresentam membranas significativamente mais delgadas em ramos parasitados quando comparados a ramos não parasitados (FIGURA 9G, 10A,B). Ramos HP possuem em média frações de pontoações intervasculares (Pf) semelhantes às de galhos NP (FIGURA 10E,F).

TABELA 3 – Médias para as variáveis anatômicas analisadas. Desvios padrão entre parênteses.

Situação	VD	VSF	GSGV	Ks (x10⁻⁷)	Dh	Pf	Wt
	Vasos.mm ⁻²	%	-	Kg.m ⁻¹ .Mpa ⁻¹ .s ⁻¹	μm	%	μm
NP	13,54 (5,67)	60,82 (7,70)	2,14 (0,04)	6,54 (1,9)	110,78 (17,75)	0,85 (0,05)	6,81 (1,62)
HNP	18,12 (6,16)	58,40 (8,02)	2,17 (0,04)	8,05 (1,71)	108,49 (13,69)	0,86 (0,05)	--
HP	17,16 (11,33)	54,73 (4,73)	2,21 (0,06)	7,22 (3,18)	108,23 (6,84)	0,83 (0,05)	6,05 (1,21)

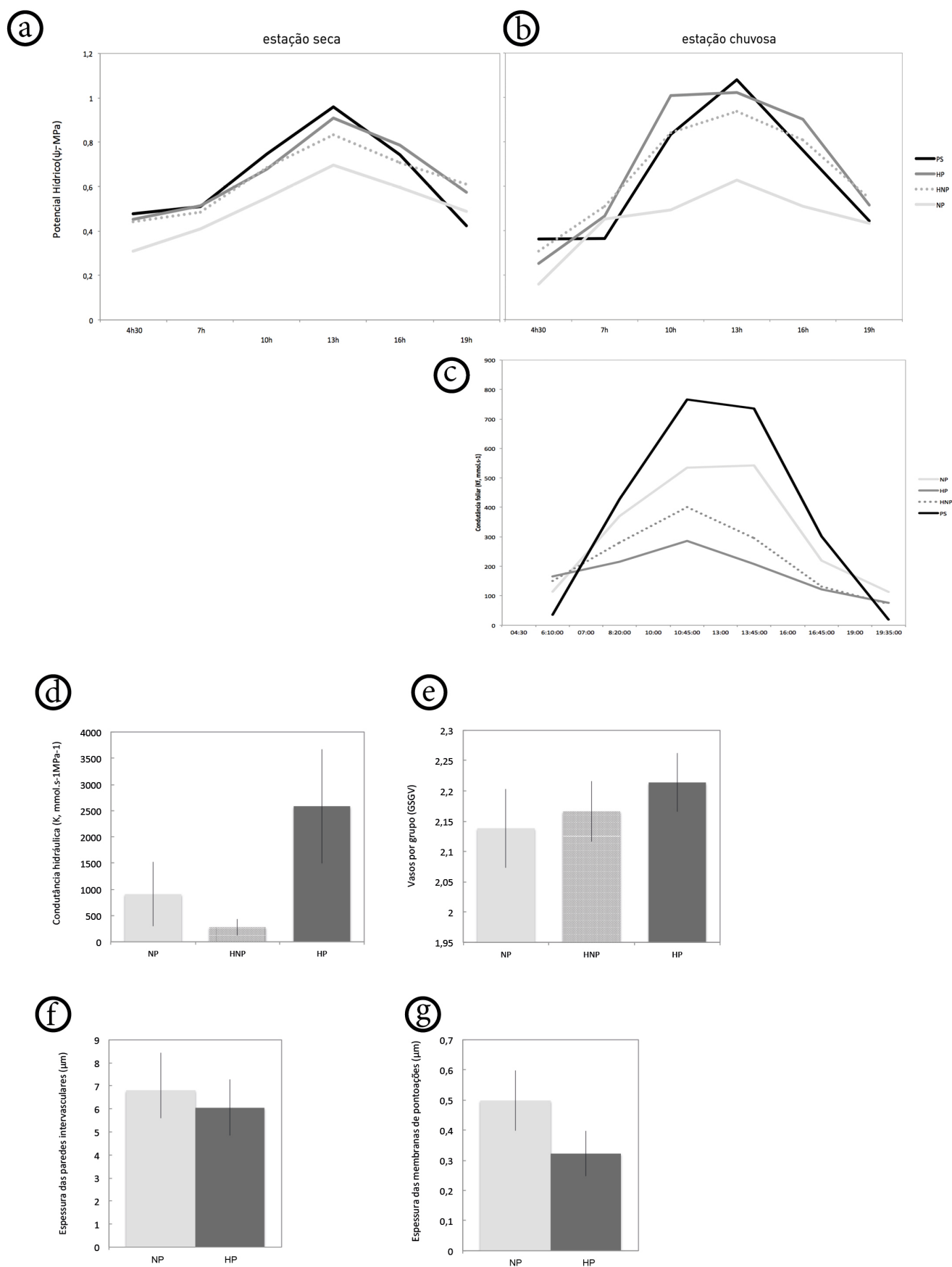


figura 9: Gráficos do funcionamento da relação parasita-hospedeiro. São apresentados os resultados dos experimentos conforme descrito no texto.

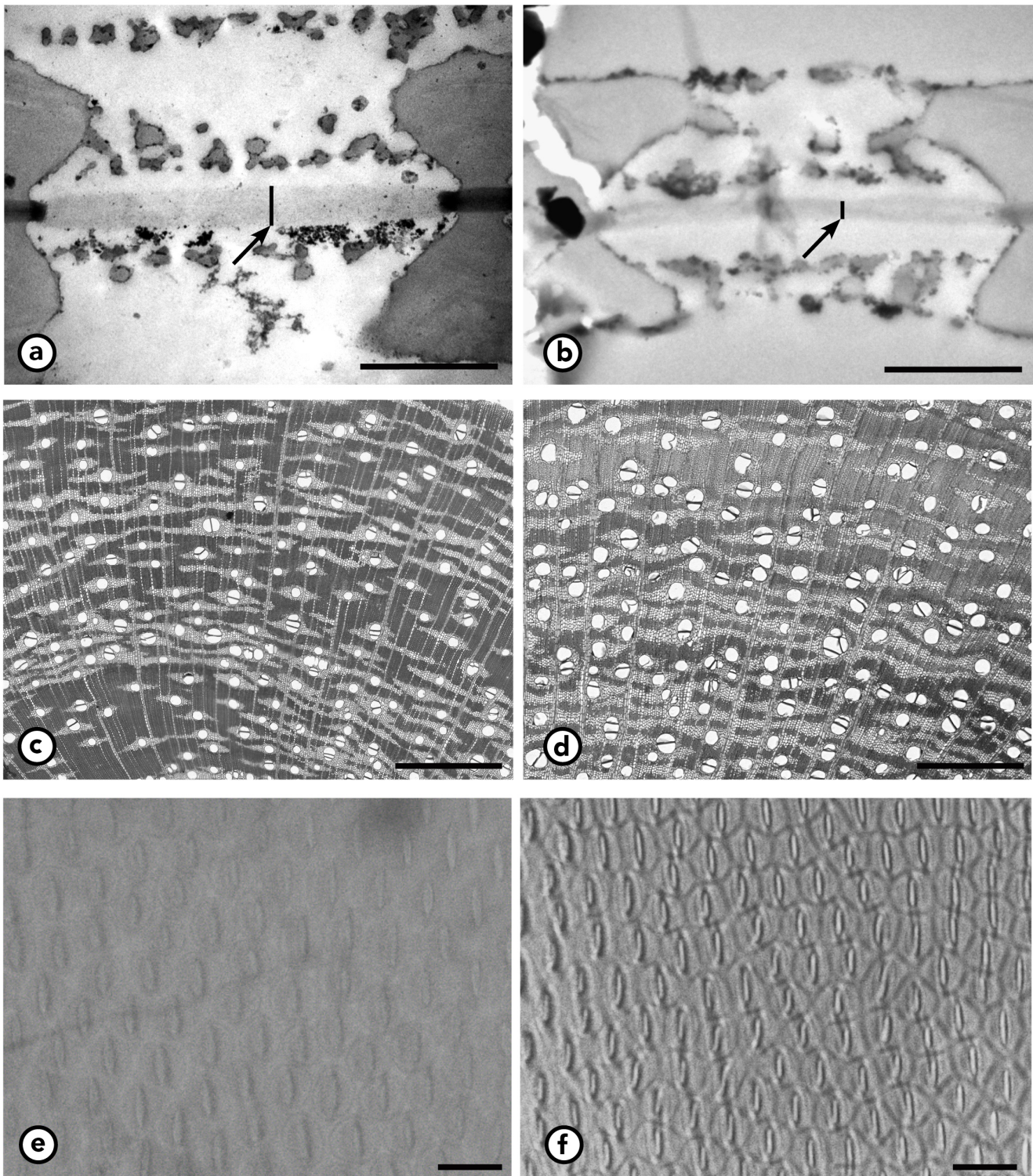


figura 10: Características anatómicas de galhos parasitados (HP) e não parasitados (NP). A,C,E: HNP; B,D,F: HP. A,B- Micrografias eletrônicas de transmissão de pares de pontoações em corte transversal às membranas. Setas: espessura das membranas das pontoações. Escala: 2 μ m. C,D- Microscopia óptica de cortes

Discussão

A análise dos perfis diários de potenciais hídricos indicam várias características do sistema hidráulico em questão. Nota-se que nas duas estações, mesmo após noites chuvosas, o potencial hídrico de nenhum ramo atinge o valor zero. Há três possibilidades para que isso ocorra: ou as plantas perdem mais água durante o dia do que são capazes de repor durante a noite à tecidos capacitivos, ou apresentam transpiração noturna, mesmo que mínima, ou, com maior probabilidade, uma combinação dos dois fatores. *V. thyrsoidea* provavelmente utiliza um sistema de capacitores para regular seu status hídrico pois possui canais secretores preenchidos por goma (WAGNER et al., 2008), que ocorre em grande abundância em caules e folhas. De fato esta espécie é apontada na literatura como uma das que possui os maiores valores de capacitância (SCHOLZ et al., 2007). Essa goma, composta por água e polissacarídeos complexos possui alto potencial osmótico que pode ser regulado pela concentração de formas diferentes de açúcares, de forma que sugere compor um sistema de alta capacitância potencialmente modulável. Além disso, embora não tenha sido observada evapotranspiração nas ultimas horas do dia, é possível que a condutância estomática aumente durante a madrugada como tem sido demonstrado em várias espécies arbóreas em diversos ambientes (DAWSON et al., 2007).

A comparação entre os potenciais hídricos no *midday* nas duas estações demonstra que todas as situações experimentais de *V. thyrsoidea* comportam-se segundo a estratégia isohídrica de balanço de água. Apesar de grandes diferenças climáticas no ambiente (temperatura, umidade e VPD), as plantas regulam seu funcionamento de modo que os sistema permanece em um regime constante de potenciais hídricos, desacoplado do meio (MARTÍNEZ-VILALTA et al., 2014). Esta estratégia reduz os efeitos da falta de água no sistema hidráulico das árvores, mas requer alto poder de ajuste da interface planta-atmosfera, mediada principalmente pelos estômatos.

No entanto, apesar de demonstrarem-se amplamente capazes de auto-regulação hídrica, as hospedeiras perdem o controle sobre os galhos

parasitados: A variação de potencial hídrico entre galhos parasitados e não parasitados é maior do que a variação de um galho ao longo de duas estações climáticas contrastantes. Especialmente na estação chuvosa, galhos parasitados enfrentem potenciais hídricos mais extremos do que galhos NP e HNP.

Isto acontece provavelmente porque, nestes galhos, os mecanismos de controle sofrem interferência da parasita. A regulação hídrica de plantas é baseada em uma rede intrincada de feedbacks entre as diversas partes de seus corpos. Partes essas que evoluíram juntas, pertencendo a um de alvo de seleção único, e que foram ajustadas para operar em limites condizentes para o organismo integrado. Quando uma parasita se instala, o sistema passa a ser híbrido, formado por partes de organismos diferentes com respostas diferentes a condições internas e externas. Os estômatos das folhas, responsáveis por mediar o funcionamento da planta considerando os limites do sistema condutor e das raízes, é o centro de decisões do controle hídrico, mas na situação híbrida formada nos galhos HP, o volume de folhas da parasita torna-se importante (e muitas vezes superior do que as da hospedeira), de forma que o controle do sistema passa a ser dos estômatos de *Psittacanthus robustus*, cujo fitness não depende do status hídrico do restante da copa da hospedeira. Assim, estas folhas apresentam condutância estomática significativamente maior do que as observadas em folhas de ramos NP, como frequentemente descrito na literatura (BELL; ADAMS, 2011; WATLING; PRESS, 2001). Apesar disso, vemos que *P. robustus* possui grande controle da condutância estomática, iniciando a regulação por volta do meio dia e cessando a transpiração logo após o anoitecer.

Os valores de condutância hidráulica (K) mais elevados em HP indicam alterações no funcionamento do sistema condutor, que tem sua eficiência aumentada assegurando o suprimento de seiva para as folhas da parasita, altamente transpirantes.

Os galhos HP, que são submetidos aos potenciais hídricos mais extremos, também têm estrutura anatômica com diferenças significativas em comparação a galhos NP. Embora várias características conhecidamente plásticas não se alterem nos galhos parasitados (D_h , K_s , P_f , V_D), há um

conjunto de propriedades ligadas ao funcionamento do sistema (LENS et al., 2011) que sofrem alterações relacionadas ao aumento da capacidade de condução, corroborando e expandido a compreensão sobre as observações funcionais de condutância hidráulica. Nesses ramos aumenta o número de vasos por grupos, e assim a quantidade de paredes intervasculares, a conectividade e a redundância do sistema (ZIMMERMAN; TYREE, 2002). Como a fração de pontoações permanece constante em relação a NP, estes galhos tem, necessariamente, maior permeabilidade entre vasos. A madeira dos galhos parasitados também tem paredes intervasculares e membranas de pontoações mais delgadas. Todas essas diferenças observadas relacionam-se a diminuição de resistência nas pontoações, que podem corresponder a até 50% da resistência de todo o sistema hidráulico (CHOAT; COBB; JANSEN, 2008). Esta redução explica a maior eficiência de condução de seiva de ramos parasitados, embora não elucide os mecanismos responsáveis por tais alterações.

As alterações anatômicas observadas em galhos parasitados, embora promovam condução de seiva mais eficiente, podem reduzir a segurança do sistema a embolismos, tornando-o mais vulnerável a eventos extremos. Uma nova metodologia é necessária para testar a vulnerabilidade do sistema, já que os métodos tradicionais são inviáveis na espécie devido a alta abundância de goma no xilema.

Conclusões

A instalação de plantas hemiparasitas em ramos de *V. thyrsoidea* está relacionada à produção de madeira com características estruturais e funcionais diferentes, de modo que os ramos parasitados tornam-se mais eficientes, suprimindo a alta demanda hídrica das plantas parasitas em detrimento à oferta de seiva para o restante da copa. Desta forma as hospedeiras evitam que os potenciais hídricos do sistema atinjam valores limítrofes provocando cavitação e falha generalizada.

Por um lado as plantas hospedeiras toleram o parasitismo alocando seus recursos hídricos para a parasita, e assim evitam a falha geral do sistema. Por outro, as plantas parasitas se valem dos sistemas naturais de resposta à estresse hídrico da hospedeira para aumentar sua disponibilidade de água e nutrientes. As plantas parasitas, assim, manipulam a programação da hospedeira a seu favor, obrigando-as a cooperar para proteger o sistema hidráulico de potenciais hídricos extremos, embolismos e falha hidráulica.

Este sistema representa uma situação modelo de resposta ao stress hídrico, em que uma planta alivia os efeitos da falta de água favorecendo os ramos com maior demanda ao invés de restringi-los.

Bibliografia

BELL, T. L.; ADAMS, M. A. Attack on all fronts: functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. **Tree physiology**, v. 31, n. 1, p. 3–15, jan. 2011.

CHOAT, B.; COBB, A. R.; JANSEN, S. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. **The New phytologist**, v. 177, n. 3, p. 608–25, jan. 2008.

DAWSON, T. E. et al. Nighttime transpiration in woody plants from contrasting ecosystems. **Tree physiology**, v. 27, n. 4, p. 561–575, 2007.

GARCÍA-FRANCO, J. G.; LÓPEZ-PORTILLO, J.; ÁNGELES, G. The holoparasitic endophyte *Bdallophyton americanum* affects root water conductivity of the tree *Bursera simaruba*. **Trees**, v. 21, n. 2, p. 215–220, 9 jan. 2007.

JANSEN, S. et al. Do quantitative vessel and pit characters account for ion-mediated changes in the hydraulic conductance of angiosperm xylem? **The New phytologist**, v. 189, n. 1, p. 218–28, jan. 2011.

- KOLB, K. J.; SPERRY, J. S. Transport constraints on water use by the Great Basin shrub, *Artemisia tridentata*. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 8, p. 925–935, 1999a.
- KOLB, K. J.; SPERRY, J. S. Differences in drought adaptation between subspecies of sagebrush (*Artemisia tridentata*). **Ecology**, v. 80, n. 7, p. 2373–2384, 1999b.
- LENS, F. et al. Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. **The New phytologist**, v. 190, n. 3, p. 709–23, maio 2011.
- MARTÍNEZ-VILALTA, J. et al. A new look at water transport regulation in plants. **The New phytologist**, 2 jul. 2014.
- MATHIASSEN, R. L. et al. Mistletoes: Pathology, Systematics, Ecology, and Management. **Plant Disease**, v. 92, n. 7, 2008.
- MEINZER, F. C.; WOODRUFF, D. R.; SHAW, D. C. Integrated responses of hydraulic architecture, water and carbon relations of western hemlock to dwarf mistletoe infection. **Plant, Cell & Environment**, v. 27, p. 937–946, 2004.
- PRESS, M. C.; GRAVES, J. D.; STEWART, G. R. Physiology of the interaction of angiosperm parasites and their higher plant hosts. **Plant Cell and Environment**, v. 13, p. 91–104, 1990.
- RASBAND, W. S. **ImageJ** Bethesda National Institute of Health, , 1997.
- SCHOLZ, F. G. et al. Biophysical properties and functional significance of stem water storage tissues in Neotropical savanna trees. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 2, p. 236–48, mar. 2007.
- SCHULZE, E.; TURNER, N. C.; GLATZEL, G. Carbon, water and nutrient relations of two mistletoes and their hosts: A hypothesis*. **Plant, Cell and Environment**, v. 7, p. 293–299, 1984.
- VON ARX, G.; DIETZ, H. AUTOMATED IMAGE ANALYSIS OF ANNUAL RINGS IN THE ROOTS. **International Journal of Plant Sciences**, v. 166, n. 5, p. 723–732, 2005.
- VON ARX, G.; KUEFFER, C.; FONTI, P. Quantifying plasticity in vessel grouping – added value from the image analysis tool ROXAS. **IAWA Journal**, v. 34, n. 4, p. 433–445, 2013.
- WAGNER, R. et al. A high-viscosity glycolucuronomannan from the gum exudate of *Vochysia thyrsoidea*: Comparison with those of other *Vochysia* spp. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 3, p. 382–389, maio 2008.
- WATLING, J. R.; PRESS, M. C. Impacts of Infection by Parasitic Angiosperms on Host Photosynthesis. **Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 244–250, maio 2001.
- ZIMMERMAN, M. H.; TYREE, M. T. **Xylem structure and the ascent of sap**. 2. ed. Berlin: [s.n.].

Discussão Geral e Conclusões

O caso estudado representa a formação de um sistema complexo entre duas plantas. Essa situação é possível pois ocorre reorganização das duas espécies envolvidas em nível estrutural e funcional, que origina um organismo emergente, com propriedades mistas entre os dois envolvidos, mas diferentes das deles, isoladamente. Ele se regula de forma especial e interage com o meio também de formas diferentes.

Vários indícios sobre relações de forma e função emergem dessa análise: a capacidade de fusão funcional e os mecanismos envolvidos nas alterações observadas parecem revelar capacidades plásticas fenotípicas das árvores hospedeiras. Este “experimento natural” possibilitou analisar respostas de uma espécie do Cerrado à sobrecarga hidráulica in vivo, com pouca interferência.

Ainda não sabemos se, e quanto, as plantas parasitas induzem as mudanças observadas. É possível que transmitam às hospedeiras hormônios ou precursores de sinalizadores celulares que causem modificações no sistema que sustentem sua instalação.

Neste trabalho, no entanto, trabalhamos com a hipótese de que as mudanças observadas são respostas passivas da hospedeira à sobrecarga do galho parasitado, segundo seu programa de respostas à stresses bióticos e abióticos. O embasamento para esta proposição vem principalmente da observação de alterações funcionais e morfoanatômicas condizentes com o que é frequentemente reportado na literatura sobre situações de sobrecarga e stress hídrico: aumento da capacidade de transporte hidráulico e redução das resistências do sistema condutor. Trabalhos futuros em nossa equipe irão se concentrar em testar diretamente esta hipótese geral que, com nossos dados, não foi refutada.

Esta hipótese se desdobra em uma interpretação sobre adaptação de um sistema de aquisição de hospedeiras pela espécie parasita. Propomos que evolutivamente *Psittacanthus robustus* tenha desenvolvido um modo de parasitar que aproveita os sistemas naturais das hospedeiras a seu favor, induzindo indiretamente melhorias no sistema que garantem seu suprimento de água e nutrientes e, assim, mantém elevado seu *fitness*.

Em uma analogia com o funcionamento de sistemas de computador, as plantas parasitas parecem *hackear* as hospedeiras: reprogramam sua estrutura e funcionamento a partir de seus próprios meios, apenas mudando os valores de entrada do sistema: potenciais hídricos e taxas transpiratórias.

Com suas próprias folhas e controle estomático, as parasitas podem sequestrar os galhos da hospedeira: rebaixam os potenciais hídricos à níveis limítrofes para a hospedeira, obrigando-as a sacrificar o suprimento de água para o restante da copa em favor do aumento da disponibilidade para o ramo com potenciais mais baixos. Esta resposta é comum a muitas plantas em situações de déficit hídrico, que aumentam o fluxo para ramos com potenciais críticos para tamponar os potenciais em níveis seguros e evitar cavitação e falha hidráulica. Isto explicaria as observações deste trabalho em efeitos positivos nos ramos parasitados (HP) e negativos nos ramos não parasitados de plantas parasitadas (HNP) quanto ao fluxo de seiva, potenciais hídricos e condutâncias hidráulicas.

Não se pode perder de vista que parasitas e hospedeiras tem coevoluído e se relacionado intimamente. É provável que esse tipo de associação tenha se tornado mais complexa do que o simples parasitismo, envolvendo modificações mútuas e convivência complexa.

Deste trabalho, conclui-se que a existência do sistema hidráulico híbrido formado entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea* depende de modificações nas duas partes envolvidas que aumentam sua compatibilidade. A produção de madeira com características morfoanatômicas diferentes promove um sistema mais eficiente, capaz de suprir recursos para a parasita que constitui um importante dreno de água.

Além disso, a ampla especialização do haustorio, com estruturas complexas, assegura a manutenção da conexão hidráulica entre os dois sistemas distintos.

O sistema estudado representa um modelo interessante de estudo do desenvolvimento da madeira em condições variadas e de respostas ao stress hídrico. São necessários estudos aprofundados nos mecanismos de ação das alterações observadas, para que as hipóteses aqui propostas sejam testadas e as relações causais dos ajustes à situação híbrida sejam elucidadas.

Resumo

A conexão hidráulica entre plantas parasitas e suas hospedeiras representa a formação de um sistema hidráulico híbrido. Além disso, plantas parasitas apresentam condutâncias estomáticas muito elevadas e potenciais hídricos mais extremos do que suas hospedeiras. Por estes motivos, estas associações representam ao mesmo tempo um desafio técnico de fusão funcional de dois sistemas complexos, e uma fonte de stress e sobrecarga para as hospedeiras, que tem sua copa competindo com plantas em regime de balanço hídrico muito díspar. Os objetivos deste trabalho foram analisar forma e função da conexão entre *Psittacanthus robustus* e *Vochysia thyrsoidea*, de maneira interdisciplinar entre a anatomia da madeira e arquitetura hidráulica, para testar hipóteses relacionadas a estrutura da conexão, mudanças associadas a formação do sistema híbrido e influências da sobrecarga sobre as propriedades das hospedeiras. A estrutura da conexão foi avaliada revelando novidades. A interpretação dos tecidos que formam os haustórios foi revisada, foram descritas modificações nas duas espécies relacionadas à conexão e descobriu-se uma nova estrutura nos haustórios, para a qual se propôs uma hipótese funcional.

Os galhos parasitados apresentaram potenciais hídricos mais baixos, no entanto são mais eficientes no transporte de seiva. Isto se relaciona a alterações morfoanatômicas que condicionam redução da resistência ao fluxo: maior contato entre vasos, paredes intervasculares e membranas de pontuações mais delgadas.

Discute-se a reação das hospedeiras no contexto de respostas ao stress hídrico.

Abstract

The hydraulic connection between parasitic plants and their hosts represents the formation of a hybrid hydraulic system. Besides, parasitic plants show high stomata conductance and more extreme water potentials. Because of it, these associations represent both a technical challenge for the fusion of two complex systems in a function unit, and a source of stress and overload for the hosts. The aim of this work was to analyze form and function of the connection between *Psittacanthus robustus* and *Vochysia thyrsoidea*, to test hypothesis related to connection structure, changes associated to the formation of the hybrid system and influence of the overload on the host's properties. The interpretation of haustoria tissues was reviewed, modifications on both the species were described and a new structure was discovered in the haustoria, to which we proposed a functional hypothesis.

Parasitized branches have lower water potentials, but are more efficient in sap conduction. This correlates to morphoanatomical modifications related to reduction in xylem resistance: more intervessel contacts and thinner intervascular walls and pit membranes.

The reactions observed on the hosts are discussed in light of water stress responses.