

**Marina Milanello do Amaral**

**A estrutura da angiosperma endoparasita  
*Pilostyles ulei* (Apodanthaceae): interface e  
impacto no lenho de *Mimosa* spp.**

**São Paulo**

**2007**

Marina Milanello do Amaral

A estrutura da angiosperma endoparasita *Pilostyles*  
*ulei* (Apodanthaceae): interface e impacto no lenho de  
*Mimosa* spp.

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: Dr. Gregório Ceccantini

São Paulo

Ano 2007

Amaral, Marina Milanello do

A estrutura da angiosperma endoparasita  
*Pilostyles ulei* (Apodanthaceae): interface e  
impacto no lenho de *Mimosa* spp.

85 páginas

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

1. *Pilostyles* 2. anatomia vegetal 3.  
*Mimosa* 4. parasita I. Universidade de São  
Paulo. Instituto de Biociências.  
Departamento de Botânica.

## Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof. Dr. Gregório Cardoso Tápias Ceccantini  
Orientador

À minha família: Olívia, José Luiz, Gisele, Danilo e Paulo

*“Confiar em Deus como se tudo dependesse Dele mas, entretanto, trabalhar como se tudo dependesse de nós”*

**Santo Inácio de Loyola**

*Paixão*

*“De vez em quando Deus me tira a poesia.  
Olho pedra, vejo pedra mesmo.  
O mundo, cheio de departamentos, não é a bola bonita caminhando  
solta no espaço”*

**Adélia Prado**

## Agradecimentos

Primeiramente, agradeço ao Dr. Gregório Ceccantini por me acolher como aluna, por aceitar e se entregar ao tema deste trabalho. Sua orientação, determinação no campo e crítica aos resultados fizeram com que minhas tarefas, apesar de difíceis, fossem sempre realizadas com muita alegria.

No mesmo sentido, agradeço ao Dr. Renato de Mello-Silva que foi o orientador de minha Iniciação Científica. Humildemente, digo que a grande maioria do que faço e como faço tem a mão dele, por isso tenho uma grande admiração por sua pessoa.

Além disso, duas pesquisadoras brilhantes, cujas lembranças irão sempre me acompanhar, são Dra. Nanuza Menezes e Dra. Veronica Angyalossy. Dra. Nanuza: você é mesmo maravilhosa e seu nome na Botânica será eternizado. Dra. Veronica: sua maneira de ser e de trabalhar é um exemplo para mim e para todas as mulheres. Sem dúvida, tive a felicidade de encontrar muitos outros professores que foram exemplo de dedicação, profissionalismo e amor pelo que fazem.

Por isso, também agradeço aos Professores que fizeram parte de minha Banca de Qualificação, dando sugestões e incentivos: Dra. Gladys Flavia de Albuquerque Melo de Pinna, e Dra. Solange C. Mazzoni-Viveiros. Também à Dra. Maria Emília, pelo grande auxílio na interpretação de imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão.

Muito obrigada à Dra. Claudia Vecchi, pois me apresentou à Anatomia Vegetal ao lado da querida Dra. Jane Kraus. À Bióloga e Técnica Gisele Rodrigues, sempre presente e companheira.

Também obrigada aos técnicos da Microscopia, Waldir, Irwandro e Márcio, e ao querido Antônio do IPT.

Obrigada ao Ibama, pela permissão de coleta e por permitir nossa estadia durante as coletas na Serra do Cipó. À *Sociedade Brasileira de Botânica* e à *Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise*, pois apresentei trabalhos relacionados à minha pesquisa em congressos de ambas as entidades. Ao Milton Groppo, por nosso trabalho em conjunto sobre *P. ulei*.

Um agradecimento especial à Fapesp, pois financiou meu projeto. A bolsa de estudos me deu a oportunidade de me concentrar nesse trabalho. Também agradeço à Capes por ter me concedido uma bolsa de estudos no início do Mestrado.

Aos queridos colegas de pós-graduação, com os quais compartilho uma amizade muito forte. Torço por todos vocês. Apesar de estar-me demorando, cito cada nome, pois todos vocês fazem parte dessa etapa: Adriana, Ana Maria, Cristiane, Deusa, Emília, Erika, Giuliano, Guilherme,

Luciana, Marcelo, Marli, Mariane, Marina Cattai, Mayumi, Paula, Rosani, Thaís, Vera, Viviane Jono e todos os estagiários.

Finalmente, à minha família e ao meu namorado: minha vida está inteiramente voltada para vocês. E ao DEUS trino sou agradecida, pois me concedeu uma vida maravilhosa, cheia de desafios e alegrias, e também à Santa Mãe Maria, por ser minha defensora.

# Índice

Resumo geral.....	01
<b>Capítulo 1. O corpo vegetativo da angiosperma holoparasita <i>Pilostyles ulei</i> (Apodanthaceae) e a associação xilemática com hospedeiros do Gênero <i>Mimosa</i> (Fabaceae)</b>	
Resumo e Abstract.....	04
Introdução.....	06
Materiais e Métodos.....	08
Resultados.....	10
Discussão.....	27
Conclusões.....	34
Referências Bibliográficas.....	35
<b>Capítulo 2. Ocupação dos meios extracelular e intracelular hospedeiros pela angiosperma holoparasita <i>Pilostyles ulei</i> (Apodanthaceae)</b>	
Resumo e Abstract.....	41
Introdução.....	42
Materiais e Métodos.....	44
Resultados.....	45
Discussão.....	54
Referências Bibliográficas.....	60
<b>Capítulo 3. O impacto do parasitismo de <i>Pilostyles ulei</i> no lenho de <i>Mimosa</i></b>	
Resumo e Abstract.....	64
Introdução.....	66
Materiais e Métodos.....	67
Resultados.....	70
Discussão.....	73
Referências Bibliográficas.....	83

Tabela





## Resumo geral

Essa Dissertação de Mestrado é apresentada em três capítulos que originarão três futuras publicações. Os capítulos só não estão sob a forma de artigos porque, para isso, tanto texto como figuras teriam de ser reduzidos. Nosso intuito é apresentar o trabalho de forma mais pormenorizada, gerando assim uma discussão mais rica, que poderá posteriormente gerar outros trabalhos mais específicos.

*Pilostyles* (Apodanthaceae) são angiospermas endoparasitas de caules de Fabaceae e um dos mais notáveis exemplos de redução do corpo vegetativo. Apesar da ocorrência de muitas espécies na América do Sul, os relatos concentram-se em espécies de outras regiões, como Estados Unidos, Austrália e Oriente Médio. Para aperfeiçoar a interpretação desse corpo vegetativo, o primeiro capítulo desse trabalho investiga anatomicamente *Pilostyles ulei*, uma espécie sul-americana, em três hospedeiros diferentes de Fabaceae: *Mimosa foliolosa* var. *multipinna*, *M. maguirei* (ambas com ocorrência em Minas Gerais) e *M. setosa* var. *paludosa* (com ocorrência na Bahia). São abordados a constituição e o posicionamento do corpo da parasita, bem como a plasticidade da zona de contato entre parasita e hospedeiro.

Fragmentos de caules parasitados e saudáveis foram processados e proporcionaram observações principalmente em Microscopia Óptica (tanto colorações simples e duplas quanto testes histoquímicos e macerações) e Microscopia Confocal. As imagens produzidas a partir de ambos os tipos de microscopia foram usadas conjuntamente e reunidas para interpretar a estrutura tridimensional que a parasita adquire em seu hospedeiro. Além disso, foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Transmissão com o intuito de procurar por outros tipos celulares parasitas (p.ex. elementos crivados).

Tem-se que as pequenas flores que rompem a periderme do hospedeiro estão conectadas a massas de corpo vegetativo parasita. As massas, formadas por parênquima (sem função de armazenamento), ocupam principalmente a região floemática dos hospedeiros Mimosoidea. A partir delas, grupos de elementos traqueais retorcidos cercados por células parenquimáticas – denominadas extensores – direcionam-se ao interior do xilema secundário hospedeiro. Nossos dados apontam que o corpo vegetativo se expande de maneira disjunta e constante, organizando-se igualmente nas três espécies hospedeiras. Os elementos traqueais são classificados como traqueídes, mostrando espessamento helical-escalariforme. Devido à desorganização e ao retorcimento, pode-se dizer que as traqueídes parasitas não estão perfeitamente conectadas umas às outras e ao restante do corpo.

A zona de contato apresenta muita plasticidade. Descreve-se pela primeira vez a ampla gama de posicionamento de um extensor na interface parasita-hospedeiro. Geralmente, o parênquima do extensor está em contato com o parênquima hospedeiro. Imagens sucessivas demonstram que apenas algumas poucas traqueídes parasitas alcançam com êxito o vaso hospedeiro. Existem associações singulares entre traqueídes parasitas e vasos hospedeiros que levam às outras formas de contato. O extensor pode rotacionar e se posicionar lateralmente segundo o mesmo eixo do vaso hospedeiro. Além disso, elementos de vaso hospedeiros podem se deslocar em direção aos extensores, numa maneira de atração muito conspícua nunca antes documentada.

O segundo capítulo se propõe a verificar a existência da continuidade simplástica entre parasita e hospedeiro e a ocupação do interior de células hospedeiras por células parasitas. Ambos os objetivos foram alvos de muitas controvérsias em estudos anteriores. A análise também se baseou em unir elementos constatados em Microscopia Óptica, Microscopia Confocal e Microscopia Eletrônica de Transmissão. O desenvolvimento do extensor provoca muitas lacunas nos tecidos hospedeiros, porém nem sempre as células parasitas ocupam tais espaços. Por outro lado, protoplastos de células isoladas, não pertencentes aos extensores, ocupam o lúmen de células hospedeiras. O início se dá nas células do raio (na porção junto ao câmbio) e depois são também invadidas células do xilema secundário. Não foram observados plasmodesmas secundários entre parasita e hospedeiro. Porém, a degeneração de parede celular hospedeira pode ocorrer bem ao lado de uma célula parasita. As células hospedeiras podem se desorganizar e deteriorar completamente ou acumular substâncias fenólicas.

O terceiro capítulo aborda o impacto do parasitismo sobre o xilema secundário hospedeiro. Esse estudo se destaca como primeiro a focar as conseqüências do parasitismo de uma holoparasita sobre aspectos anatômicos do lenho (e não o floema hospedeiro). A partir de populações das três espécies foram obtidos caules parasitados e saudáveis, dos quais foram medidos: comprimento de elemento de vaso, comprimento de fibra, freqüência de vasos e diâmetro tangencial de vaso. Além disso, são apresentados dados sobre a altura, diâmetro basal e circunferência na base nos indivíduos da população de *M. setosa*. Os dados foram comparados com Teste T de Student lineares e correlações. O parasitismo influencia negativamente o tamanho (altura, diâmetro basal e circunferência na base), comprimento de elemento de vaso, comprimento de fibra e diâmetro tangencial de vaso. No entanto, lenhos parasitados têm maior freqüência de vasos. Os resultados apresentam modificações semelhantes àquelas observadas em lenhos de plantas sob estresse de poluição ou seca. A teoria da eficiência-segurança pode ser aplicada na interpretação do parasitismo. O hospedeiro responde à parasita aumentando a segurança, mas mantendo a condutividade hidráulica total em seus níveis normais.

# Capítulo 1

**O corpo vegetativo da angiosperma holoparasita  
*Pilostyles ulei* (Apodanthaceae) e a associação xilemática com  
hospedeiros do Gênero *Mimosa* (Fabaceae)**

## Resumo

*Pilostyles* (Apodanthaceae) são angiospermas endoparasitas de caules de Fabaceae e um dos mais notáveis exemplos de redução do corpo vegetativo. Esse estudo focaliza o corpo vegetativo de *P. ulei*. As pequenas flores rompem a periderme do hospedeiro e estão conectadas a massas de corpo vegetativo parasita. Essas massas, formadas por parênquima (sem função de armazenamento), ocupam principalmente a região floemática dos hospedeiros Mimosoidea. A partir delas, grupos de elementos traqueais retorcidos cercados por células parenquimáticas – denominadas extensores – direcionam-se ao interior do xilema secundário hospedeiro. Os elementos traqueais são classificados como traqueídes, mostrando espessamento helicoidal-escalariforme. Devido à desorganização e ao retorcimento, pode-se dizer que as traqueídes parasitas não estão perfeitamente conectadas umas às outras e ao restante do corpo.

A zona de contato apresenta muita plasticidade morfológica. Descreve-se pela primeira vez a ampla gama de posicionamento de um extensor na interface parasita-hospedeiro. Geralmente, o parênquima do extensor está em contato com o parênquima hospedeiro. Imagens sucessivas demonstram que apenas algumas poucas traqueídes parasitas alcançam com êxito o vaso hospedeiro. Existem associações singulares entre traqueídes parasitas e vasos hospedeiros que levam às outras formas de contato. O extensor pode rotacionar e se posicionar lateralmente segundo o mesmo eixo do vaso hospedeiro. Além disso, elementos de vaso hospedeiros podem se deslocar em direção aos extensores, numa maneira de atração muito conspícua nunca antes documentada.

## Abstract

*Pilostyles* (Apodanthaceae) are endoparasitic angiosperms of Fabaceae stems and one of the most remarkable situations of body reduction. This study focuses the vegetative body of *P. ulei*. From an external view, there are only tiny flowers which break out the host periderm. Internally, they are connected to masses of vegetative body. These masses, formed by parenchyma (which have no storage function), occupy especially the phloem area of the Mimosoidea hosts. From them, groups of twisted tracheary elements surrounded by parenchyma cells - called sinkers - run into the host secondary xylem. Tracheary elements were interpreted as tracheids, with helicoidal to scalariform thickening. Due to their disorganised and twisted features, parasite tracheids could be considered not perfectly connected to each other and from the rest of the body. The contact zone shows wide morphological plasticity. Here is described, by the first time, the wide range of sinker positioning in the host-parasite interface. Usually, sinker parenchyma contacts host parenchyma.

Successive images show that only a few parasite tracheids successfully reach the host vessel. There are unique associations between parasite tracheids and host vessels which lead to other forms of contact. Sinker can rotate and be laterally positioned to the host vessel. Moreover, host vessels elements can head for sinkers, in ways of a strong attraction never documented.

## Introdução

Em diversas famílias de angiospermas são encontradas plantas parasitas. Muitas espécies são incapazes de realizar fotossíntese, obtendo sua nutrição diretamente de uma outra planta, sendo por isso denominadas holoparasitas [Do grego *hólos* = inteiro, completo, todo]. Morfologicamente, são muito reduzidas quando comparadas a outros gêneros da mesma família. Uma das mais notáveis situações ocorre em *Pilostyles* (Apodanthaceae - Rafflesiaceae *s.l.*, Blarer *et al.* 2004). Seu diminuto corpo vegetativo se encontra completamente embebido nos caules de Fabaceae. A estrutura desse endofito é muito simples; não há órgãos tradicionais como raiz, caule e folha, mas somente um sistema de feixes celulares que explora os três eixos do caule hospedeiro. Resumidamente, o sistema é formado por massas de células parenquimáticas no floema secundário hospedeiro e grupos de células em forma de projeções radiais – “sinkers”, aqui denominados extensores – que penetram no xilema secundário hospedeiro.

Sustenta-se que o crescimento do sistema endofítico (Kuijt 1969) acompanha o crescimento do meristema apical caulinar, recebendo a denominação de crescimento isofásico. Durante a extensão das regiões apicais do hospedeiro, algumas células de *Pilostyles* são carregadas na mesma direção, desenvolvendo um novo sistema nesta nova posição. Dessa maneira, o ápice caulinar do hospedeiro estará permanentemente infectado. O restante do corpo da parasita pode manter continuidade com a parte migrante ou, do contrário, fenecer. Sendo assim, é uma constatação comum a presença de somente flores femininas ou masculinas relacionadas a um indivíduo parasitado.

Apesar da aparente simplicidade, não há um padrão para o corpo vegetativo das espécies descritas de *Pilostyles*. Há controvérsias inclusive quanto à presença de tipos celulares básicos. Enquanto Guillemin (1854), Solms-Laubach (1874 e 1875) e Endriss (1902) descrevem apenas traqueídes nos extensores de inúmeras espécies, Rutherford (1970) identificou elementos de vaso em *P. thurberi*. Já Kuijt *et al.* (1985), analisando a mesma espécie usada por Rutherford, reconheceram células floemáticas: elementos de tubo crivado em meio ao parênquima da parasita. Além disso, Dell *et al.* (1982) descreveram um endofito formado apenas por parênquima e células meristemáticas em *P. hamiltonii*, ou seja, sem elementos traqueais nos extensores. Esse panorama indica que não há uma visão consistente do endofito, comprometendo a formação de conhecimentos básicos e seguros para a compreensão do modo de exploração da parasita.

Acreditamos que parte dessas incertezas possa estar relacionada à pouca dedicação das pesquisas às espécies da América Central e da América do Sul. A grande maioria das espécies ocorre no Novo Mundo (continente americano) e quase metade dessas somente no Brasil. Todavia,

os estudos mais minuciosos se concentraram em áreas pouco significativas para o gênero. Já houve estudos de *Pilostyles* da Austrália (Dell *et al.* 1982), Oriente Médio - que possui apenas uma espécie, *P. haussknechtii* (Solms-Laubach 1874), e três estudos versando sobre a mesma espécie na América do Norte, *P. thurberi* (Solms-Laubach 1875, Rutherford 1970 e Kuijt *et al.* 1985). O restante da América possui mais de dez espécies, mas conta apenas com uma única descrita: *P. ingae* em uma interpretação muito profunda, porém do início do século passado (Endriss 1902). Dessa maneira, a escassez de dados esconde a complexidade da interface parasita-hospedeiro e, conseqüentemente, do contato xilemático entre eles.

Para aperfeiçoar a interpretação desse corpo vegetativo, esse trabalho investiga anatomicamente *Pilostyles ulei*, uma espécie sul-americana, em três hospedeiros diferentes de Fabaceae: *Mimosa foliolosa* var. *multipinna*, *M. maguirei* e *M. setosa* var. *paludosa*. São abordados a constituição e o posicionamento do corpo da parasita, bem como a plasticidade da zona de contato entre parasita e hospedeiro. Nossos primeiros resultados já estão disponíveis na literatura (Groppo *et al.* 2007).