

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**Anatomia, Histoquímica e Desenvolvimento da Raiz Adventícia de
Struthanthus marginatus (Desr.) G. Don (LORANTHACEAE)**

LEOHANA MARTINS MACHADO

VITÓRIA DA CONQUISTA – BAHIA – BRASIL
NOVEMBRO DE 2020

LEOHANA MARTINS MACHADO

**Anatomia, Histoquímica e Desenvolvimento da Raiz Adventícia de
Struthanthus marginatus (Desr.) G. Don (LORANTHACEAE)**

Monografia apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Curso de Engenharia Florestal, para a obtenção do título de bacharel em Engenharia Florestal.

ORIENTADOR: Professor Doutor Carlos André Espolador Leitão

VITÓRIA DA CONQUISTA – BAHIA – BRASIL

NOVEMBRO DE 2020

LEOHANA MARTINS MACHADO

**Anatomia, Histoquímica e Desenvolvimento da Raiz Adventícia de
Struthanthus marginatus (Desr.) G. Don (LORANTHACEAE)**

Monografia apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Curso de Engenharia Florestal, para a obtenção do título de bacharel em Engenharia Florestal.

Comissão Examinadora:

Prof. Paulo Araquém Ramos Cairo (DFZ) – UESB

Prof. Claudenir Simões Caires (DCN) - UESB

Prof. Daíse Cardoso de Souza Bernadino (DFZ) - UESB

**Prof. Carlos André Espolador Leitão (DCN) – UESB
(Orientador)**

Highlights

- As raízes epicorticais de *Struthanthus marginatus* auxiliam na ocupação da planta sobre o hospedeiro.
- Essas raízes são poliarcas, fotossintetizantes, desprovidas de zona pilífera e de estrias de Caspary.
- Essas raízes realizam crescimento secundário não usual, mantendo o córtex.
- No lenho, se formam tilos contendo grãos de amido, que podem ser desfeitos.

ANATOMIA, HISTOQUÍMICA E DESENVOLVIMENTO DA RAIZ ADVENTÍCIA DE *STRUTHANTHUS MARGINATUS* (DESR.) G. DON (LORANTHACEAE)

Struthanthus marginatus (Desr.) G. Don (Loranthaceae), popularmente conhecida como erva-de-passarinho, é uma epífita hemiparasita que obtém água e nutrientes do hospedeiro por meio de haustórios. Além da sua importância ecológica, silvicultural e econômica, produz princípios ativos de importância farmacológica. A estrutura anatômica das raízes adventícias de *S. marginatus* é bem distinta e ainda pouco compreendida. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o desenvolvimento dessas raízes, mediante análise anatômica e histoquímica. Para este fim, foram obtidas amostras de diferentes fases de desenvolvimento, ou seja, do ápice à porções em estrutura secundária; que foram processadas segundo metodologia usual em Anatomia Vegetal. O ápice radicular é do tipo aberto. A coifa é discreta, caracterizando-se por cerca de cinco camadas celulares em arranjo organizado. Nas células do meristema fundamental ocorrem inúmeros grãos de amido. A seis milímetros do ápice, a raiz já se encontra em estrutura primária relativamente pronta. A epiderme possui aspecto colapsado, sem a ocorrência de pelos radiculares. O parênquima cortical possui predominantemente células fenólicas. O estelo encontra-se desenvolvido. Caracteriza-se pela ocorrência de cerca de 20 pólos de protoxilema, onde a medula encontra-se ainda em processo de lignificação. Externamente ao floema, formam-se grupos de fibras. Esclereídes com cristais prismáticos ocorrem em grupos pelo córtex e também associados às fibras do floema. Os tecidos vasculares secundários são produzidos precocemente, inicialmente entre os pólos de protoxilema. Os vasos de xilema secundário são bem mais amplos que os do xilema primário. O parênquima medular permanece em processo de lignificação. O felogênio é formado subjacente à epiderme, diferindo da origem pericíclica usual. Portanto, não há descarte do córtex. A 30 mm do ápice, a raiz já se encontra com os tecidos vasculares secundários formando um anel completo, onde o floema é particularmente volumoso e os elementos de vasos possuem tilos contendo grãos de amido. Os resultados obtidos demonstram a peculiar estrutura do sistema radicular de *S. marginatus*, mesmo sem considerar os haustórios. Aparentemente, essas diferenças são devidas ao hábito epífito e parasita da espécie.

Palavras-chave: Anatomia radicular, crescimento secundário não usual, erva-de-passarinho, histoquímica, planta medicinal, planta parasita.

1. Introdução

As plantas são organismos autotróficos presentes na base da cadeia alimentar. Entretanto, estima-se que 1% das espécies vegetais sejam parasitas (Nickrent, 2019). O hábito parasita se desenvolveu independentemente em diversos grupos taxonômicos, podendo variar desde uma interação indireta com o hospedeiro através de fungos (Raven, 2014) até uma interação direta entre tecidos vegetais do hospedeiro e do parasita, mediante uma estrutura radicular modificada denominada haustório (Kuijt, 1969). O haustório pode fazer conexão com diferentes órgãos do hospedeiro. Quanto ao órgão parasitado, as parasitas podem ser terrestres, as quais atacam raízes de outras plantas, ou podem ser aéreas, atacando caules e folhas.

A fisiologia da interação entre parasita e hospedeiro é variável, levando à classificação como hemiparasitas as plantas que atacam apenas o xilema, e holoparasitas, quando também invadem o floema, adquirindo fotoassimilados (Kuijt, 1969; Kuijt, 2009). Neste último caso, a planta costuma ser aclorofilada, como *Cuscuta partita* Choisy da família Convolvulaceae (Alencar et al., 2019). Embora essa classificação seja aparentemente simples, a fisiologia dessa interação é controversa e ainda pouco compreendida, uma vez que se deduz que todas as hemiparasitas sejam holoparasitas em algum grau, e que os parasitas podem também fornecer substâncias para o hospedeiro.

O modo de ataque direto das plantas parasitas é a invasão do sistema vascular do hospedeiro, assim alteram seu crescimento, forma, reprodução, fisiologia e desempenho (Howell e Mathiasen, 2004), além de realizarem a translocação de fotoassimilados (Kuijt, 1964). Uma vez que a infestação de hemiparasitas pode ocorrer em função da abundância das espécies no ambiente, os representantes da família Fabaceae estão entre os principais hospedeiros (Mourão et al., 2009).

Dentre as 12 ordens de plantas parasitas, destaca-se Santalales por possuir mais da metade das espécies, que são distribuídas em 20 famílias e 179 gêneros (Nickrent, 2019) abrigando a maioria das espécies haustoriais. Cinco famílias de Santalales são compostas parcial ou totalmente por ervas-de-passarinho: Amphorogynaceae, Loranthaceae, Misodendraceae, Santalaceae e Viscaceae (Nickrent et al. 2010). Destas, apenas Santalaceae, Viscaceae e Loranthaceae

ocorrem no Brasil (Arruda et al. 2012). A ordem Santalales constitui o mais expressivo grupo de plantas parasitas da flora mundial (Reif e Andreatta, 2011).

A família Loranthaceae faz parte do grupo das hemiparasitas aéreas (Nickrent et al., 2010). Essa família possui distribuição pantropical, incluindo cerca de 76 gêneros e 1044 espécies (Nickrent, 2019). No Brasil é descrita contendo 12 gêneros e 131 espécies, as quais estão presentes em praticamente todos os ecossistemas brasileiros (Arruda et al., 2012).

As plantas conhecidas como ervas-de-passarinho são hemiparasitas dispersadas em sua grande maioria por aves e se desenvolvem sobre os ramos de árvores, das quais absorvem água e nutrientes por meio de um sistema haustorial característico, mantendo a capacidade de realizar todos os processos fotossintéticos independentemente.

As ervas-de-passarinho podem parasitar tanto arbustos quanto árvores de ruas, praças, jardins, pomares e florestas. Fixam-se aos galhos e troncos da planta hospedeira, onde se desenvolvem vigorosamente e ocupam parcial ou totalmente a copa das árvores (Rotta, 2001).

Os estudos anatômicos sobre as ervas-de-passarinho são relativamente escassos, e em sua maioria, abordando exclusivamente a interface haustório/tecidos do hospedeiro. Infelizmente, a estrutura e o desenvolvimento das raízes portadoras de haustórios, ditas raízes epicorticais, são ainda praticamente desconhecidos. Por serem raízes aéreas, aparentemente absorventes apenas nos haustórios, são portadoras de modificações e adaptações únicas, cuja análise pode auxiliar na compreensão da fisiologia, da taxonomia, da ecologia e da evolução das Loranthaceae.

Struthanthus marginatus (Desr.) G. Don (Loranthaceae) é uma erva-de-passarinho de ampla ocorrência, encontrada em todas as regiões do Brasil (Dettke e Caires, 2015). Possui compostos químicos com potencial anti-inflamatório, antibacteriano e antiviral e, por conseguinte, é importante na medicina popular sendo utilizada no tratamento de doenças respiratórias como a bronquite (Reif e Andreatta, 2011). A espécie também possui capacidade de assimilar compostos químicos advindos do hospedeiro, como por exemplo alcaloides tropânicos causadores de intoxicações em humanos (Martins et al., 2006).

Então, levando em consideração as individualidades do gênero *Struthanthus*, bem como a importância de compreender aspectos anatômicos e o desenvolvimento das raízes epicorticais de um importante representante de erva-de-passarinho, o presente trabalho teve como objetivo estudar a estrutura da raiz epicortical de *S. marginatus*, do ápice à estrutura secundária, utilizando-se testes histoquímicos para identificação das principais classes químicas em suas células e tecidos.

2. Material e métodos

Raízes epicorticais de *Struthanthus marginatus* (Desr.) G. Don foram coletadas em 2014 parasitando indivíduos da espécie *Bambusa vulgaris* Schrad. (Poaceae), localizados na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista, Bahia (14°53'28" S; 40°48'14" W), a 823 metros acima do nível do mar. O material testemunha foi depositado no herbário da Universidade de Brasília - UnB sob os números 587/588/589 e estão disponíveis no Centro de Referência em Informação Ambiental - CRIA. As amostras das raízes foram removidas manualmente com lâmina de barbear e subdivididas em sessões do ápice a 3 mm, de 3 mm a 6 mm, de 6 mm a 10 mm, de 10 mm a 14 mm, de 20 mm a 24 mm, e sessões em notável crescimento secundário, a distâncias superiores a 100 mm do ápice. Parte das amostras foram fixadas imediatamente a 4°C em solução contendo 0,5% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído, 3% de sacarose e 5 mmol / L de cloreto de cálcio, em 0,2 mol / L tampão de fosfato de sódio a pH 7,2 (Karnovsky, 1965) e armazenado em etanol a 70% (Berlyn e Miksche, 1976).

Para os procedimentos em microscopia de luz, as amostras fixadas foram parcialmente desidratadas até etanol a 95% e depois embebidas em resina glicolmetacrilato (Historesin®-Leica). Foram obtidas secções seriadas transversais e longitudinais, otimizadas para estudos histoquímicos (Leitão, 2018) com 3 µm de espessura utilizando-se um micrótomo rotativo Leitz 1212 (Ernst Leitz Optical Works, Wetzlar, Alemanha) equipado com uma navalha tipo C.

Os cortes foram colocados em lâminas e submetidos a diferentes técnicas contrastantes e histoquímicas, a saber: para caracterização estrutural e obtenção de metacromasia, utilizou-se 0,025% de Azul de Toluidina em tampão McIlvane em pH 4,0 (O'Brien et al., 1964; Vidal, 1977); para a detecção de carboidratos totais, a

reação do PAS (Maia, 1979); para demonstrar a presença de mucilagem, 5% de Ácido Tânico e 3% de Cloreto Férrico (Pizzolato e Lillie, 1973) ou 0,05% de Azul de Alciano a pH 2,5 (Whiteman, 1973); para proteínas totais, Xylidine Ponceau 2R a 0,1% a pH 2,5 (Vidal, 1970); para fenóis, 10% de Dicromato de Potássio (Gabe, 1968) e para localizar lipídios, solução de Sudan Black B (Pearse, 1972).

Também foram realizados cortes frescos a mão livre utilizando lâmina de barbear, que foram analisados sem coloração, ou corados com Azul de Toluidina em tampão McIlvaine em pH 4,0 para obtenção de metacromasia e inferências histoquímicas (Ribeiro e Leitão, 2020), ou fixados em FAA₅₀, clarificados em hipoclorito de sódio a 5% e corados com safranina O 1% (Berlyn e Miksche, 1976) para evidenciação de estrias de Caspary.

As lâminas, tanto de cortes de material incluído quanto de cortes a mão livre, foram montadas com água (Johansen, 1940) no momento da observação. Para a análise e documentação fotográfica, foi empregado um microscópio de luz Leica DM750 equipado com recurso de luz polarizada e sistema de captura digital de imagens Leica ICC50HD (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha).

Para os procedimentos em microscopia eletrônica de varredura, parte das amostras armazenadas em etanol a 70% foram desidratadas em uma série de etanol / cetona e submetidas à secagem com ponto crítico do CO₂, utilizando-se um equipamento Bal-Tec CPD030 (Balzers, Schaan, Liechtenstein). A deposição catódica de ouro foi realizada em um pulverizador catódico Bal-Tec SCD050 (Balzers, Schaan, Liechtenstein) (Bozzola e Russel, 1992). Para observação e documentação fotográfica, foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura Quanta 250 (FEI Company, Oregon, EUA) equipado com um sistema de captura digital de imagens a 10kV.

3. Resultados

As raízes de *Struthanthus marginatus* são adventícias. Geralmente surgem em sequência, se dispondo perpendicularmente ao caule. Enquanto não entram em contato com um substrato apropriado, possuem formato relativamente retilíneo, alcançando comprimento de 4 a 7 cm (Fig. 1A). Porém, ao entrarem em contato com

o hospedeiro, que pode ser inclusive um outro ramo do próprio indivíduo, retorna o crescimento assumindo hábito volúvel e também aumentando em espessura (Fig. 1B).

O ápice é arredondado. Quando observado ao microscópio eletrônico de varredura, apresenta células em descamação (Fig. 1C). Em corte longitudinal, é possível observar discreta coifa com cerca de sete camadas de células, onde as duas camadas proximais se destacam pelo grande volume celular enquanto que as demais camadas são constituídas por células colapsadas (Fig. 1D), cujas paredes apresentaram afinidade para o teste de azul de Alciano (Fig. 1E), indicando a impregnação de material mucilaginoso. O caliptrógeno é externo à protoderme e caracteriza-se por possuir células que acumulam fenóis (Fig. 1F).

As células do meristema apical radicular são cúbicas, com citoplasma denso, com muita afinidade ao teste para detecção de proteínas, com núcleo evidente e vacúolos inconspícuos, embora algumas dessas células possuam vacúolos evidentes, ocupando mais da metade do volume celular (Fig. 2A). É notável a presença de plastídeos contendo grãos de amido, que são maiores nas células protodérmicas e nas camadas mais superficiais do meristema fundamental (Fig. 2B). Este possui cerca de 12 camadas de células desde a porção apical (Fig. 1D). Poucas células foram observadas em atividade mitótica na região apical (Fig. 2B).

A raiz é poliarca, com cerca de 20 pólos de protoxilema (Fig. 2C). Os primeiros elementos de protoxilema e de protofloema se tornam maduros a 6 mm do ápice (Fig. 2D). O procâmbio mostrou o tecido meristemático primário mais ativo em divisões celulares (Fig. 2E). A 10 mm do ápice, conclui-se o desenvolvimento dos tecidos vasculares primários, embora os demais tecidos da raiz permaneçam com células de aspecto juvenil (Fig. 2F). Essa região é recoberta pela coifa e a epiderme já apresenta aspecto colapsado, sem haver o desenvolvimento de pelos radiciais (Fig. 2D). Os grupos de células floemáticas se destacam por possuírem fibras em sua porção periférica. Estas se caracterizam pelo lúmen mais amplo que os elementos de metaxilema (Fig. 2F). Essas fibras são associadas a fileiras de idioblastos curtos contendo monocristais (Fig. 3A-B). O córtex mantém cerca de 12 camadas de células (Fig. 3C), conforme relatado para o meristema fundamental na região apical (Fig. 1D). O córtex é constituído por parênquima clorofiliano, ocorrendo também células amilíferas (Fig. 3D), além de esclereídes isolados ou em pequenos

grupos, bem como células fenólicas (Fig. 3E). Não foram vistas estrias de Caspary na endoderme (Fig. 3F) e, somando o fato de o floema ser fortemente lobado, se projetando além dos pólos de protoxilema (Fig. 2F), o periciclo e a endoderme não são evidentes.

O crescimento secundário se inicia logo aos 6 mm do ápice (Fig. 2D). Nessa altura, observa-se a formação de grupos de floema e xilema secundários internamente ao floema primário e entre os pólos de protoxilema. Percebe-se progressivo aumento na espessura das paredes das fibras associadas ao floema primário, bem como aumento na quantidade das mesmas (Fig. 4A).

Aos 20 mm do ápice, o xilema secundário constitui um anel completo. A medula encontra-se completamente lignificada (Fig. 4B). Quando em crescimento secundário avançado, observa-se que o córtex permanece clorofiliano, com mais células fenólicas (Fig. 4C). O lenho é notavelmente fibroso. Os elementos de vaso ocorrem em grupos e possuem lúmen relativamente grande, muito maior do que os do xilema primário (Fig. 4D). A placa de perfuração é simples e o padrão de espessamento observado é reticulado ou pontoado (Fig. 4E). O parênquima axial é em faixas, podendo ser quase ausente, e os raios são multisseriados (Fig. 4 B, C). As células parenquimáticas do lenho acumulam amido, muitas das quais também acumulam compostos fenólicos (Fig. 5A). Essas células podem emitir, para dentro dos elementos de vaso, tilos contendo grãos de amido (Fig.5B, C). Essa condição foi observada em cerca da metade dos elementos de vaso do lenho das amostras obtidas na primavera (Fig. 4D), porém nas amostras obtidas no verão, não foram vistos tais tilos (Fig. 4B).

O floema secundário é notavelmente volumoso apresentando células especializadas com áreas crivadas proeminentes laterais e placas crivadas oblíquas conectadas umas às outras formando uma série longitudinal estratificada com fibras associadas. Os elementos de tubo crivado apresentam diâmetros maiores do que o metafloema (Fig. 5D), semelhante ao padrão observado no xilema.

As células mais periféricas da medula também iniciam o processo de deposição de paredes secundárias lignificadas. Na periferia do córtex se observa a formação de uma periderme, com súber notável (Fig. 5E), onde se desenvolvem várias lenticelas, bem como o aumento na quantidade de células fenólicas (Fig. 5E,

F), principalmente na região periférica. Não foi observada a proliferação do periciclo, nem tampouco o descarte do córtex.

4. Discussão

Há muito tempo se sabe que as raízes das plantas têm alta capacidade de explorar os ambientes nos quais estão inseridas a fim de buscar por água e nutrientes. Embora a grande maioria dos estudos sejam com foco em raízes subterrâneas, estas podem adquirir diferentes hábitos, como *Struthanthus marginatus*, que em vários aspectos apresenta singularidades que vão muito além de seu hábito aéreo e parasita.

Simpson (1989) relatou que plantas parasitas podem aparecer inserindo haustórios nas raízes de plantas hospedeiras inter e intraespecíficas, bem como em seus próprios órgãos, inclusive folhas. É possível supor que ela usa o mecanismo da raiz não somente como um sugador haustorial, mas também para se embolar e fixar-se sobre diferentes substratos para se desenvolver. O fato da parasita se grudar nela mesma também tende a favorecer essa estratégia, na qual quanto mais emaranhada ela estiver, maiores chances de fixação.

O processo de dispersão de ervas-de-passarinho é bem conhecido pela ação de aves que disseminam as sementes (Alkema e Martínez-Del-Rio, 2002). Com relação à propagação vegetativa, já foi constatada uma correlação com a arquitetura do hospedeiro (Alkema, 2003) e, recentemente, com o hábito de crescimento dos ramos aéreos de *S. flexicaulis* Mart. sobre a copa do hospedeiro (Mourão et al., 2017). No presente trabalho foi observado em *S. marginatus* que as raízes crescem com um certo grau de curvatura em sequência, adquirindo um formato semelhante a um pente. O caule de *S. marginatus* é pendente, à semelhança de outros representantes do gênero (Dettke e Waechter, 2014). Portanto, é possível inferir que, pela ação do vento, os ramos de *S. marginatus* podem balançar e, mediante as raízes epicorticais enfileiradas, podem enganchar em um ramo do hospedeiro. Dessa forma, a ocupação sobre a copa do hospedeiro em que se encontra é facilitada. Caso ocorra um hospedeiro próximo, esse mecanismo pode auxiliar a dispersão vegetativa do parasita em outros indivíduos, complementando assim os modelos de dispersão propostos por Alkema (2003) e Mourão et al. (2017).

Embora as plantas sejam tecnicamente incapazes de se movimentar tal qual os animais, estas ainda são capazes de apresentar comportamento inteligente afim de favorecer sua sobrevivência. Alguns trabalhos levam a acreditar que as raízes, quando não encontram substrato, param de crescer em comprimento e investem em novas raízes que formam essa sequência, indicando que a adição de células no ápice radicular acontece lentamente ou que o crescimento é sazonal, onde a obtenção de amostras se deu em época de crescimento lento ou suspenso. Como as raízes não estão investindo energia em divisão celular ou alongamento rápido de células, elas podem concentrar todos os seus recursos na percepção e processamento de sinais ambientais e estratégias de desenvolvimento (Baluska et al., 2004), como por exemplo adaptações em relação à temperatura e disponibilidade hídrica do local onde estão inseridas.

Apesar de certas plantas parasitas apresentarem grande impacto no âmbito econômico mundial, ainda há poucos estudos referentes à essa complexa relação de parasitismo, visto que estão envolvidos dois organismos do mesmo grupo, ou seja, duas plantas, que compartilham aspectos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos entre elas (Lozano-Baena et al., 2007). O sistema de parasitismo requer órgãos especializados para explorar a planta hospedeira (Kuijt, 1969) e *S. marginatus* desenvolve haustórios secundários formados exclusivamente por raízes laterais, o que pode explicar o fato das raízes dessa espécie não estabelecerem associações micorrízicas com fungos e também não possuem pelos radiciais uma vez que não existe a necessidade de aumentar sua capacidade de absorção de nutrientes quando ela já possui um sistema altamente especializado.

Além da alta capacidade de ataque ao hospedeiro, as raízes apresentam um sistema de defesa, o qual é caracterizado pela grande quantidade de compostos fenólicos flavonoides presentes nas células. Essas substâncias exercem várias funções dentro da planta, dentre elas, proteção contra radiação e defesa contra microrganismos patogênicos (Simões et al., 2010). Esses dois sistemas complexos combinados favorecem o desenvolvimento e a prosperidade da espécie na natureza.

É interessante salientar que na medula da raiz epicortical de *S. marginatus* não foram observados conteúdos fenólicos, assim como relatado para *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler (Sant'Ana, 2012) e ao contrário do que foi descrito por Chiu (2005) para a hemiparasita aérea *Taxillus tsaii* S.T. Chiu. (Loranthaceae).

A organização meristemática do ápice radicular de *S. marginatus* é do tipo aberta, uma vez que não é nítida a distinção por inteiro dos tecidos meristemáticos. A coifa é sutil, possui aparentemente capacidade de produzir alguma mucilagem, e provavelmente não tem percepção gravitrópica. Segundo Baluska et al. (2004), o ápice radicular é dotado de uma gama de células altamente especializadas, agindo como um centro de comando. A coifa é responsável por controlar as direções de crescimento (Baluska e Mancuso, 2013), porém, no caso de *S. marginatus*, o padrão de crescimento das raízes na horizontal antes de alcançar um substrato aponta para uma ausência de percepção gravitacional da coifa e presença de uma resposta tigmotrópica.

Um fato marcante observado na raiz de *S. marginatus* foi a ausência de estrias de Caspary. Inclusive, foi impraticável a distinção segura da endoderme. Em *Ombrophytum subterraneum* (Balanophoraceae) é relatada a ausência desse tecido (Mauseth et al., 1992). Sant'ana (2012), estudando a espécie *Phthirusa ovata*, que também é uma hemiparasita aérea formadora de haustório secundário, não relatou a presença de estrias de Caspary na raiz epicortical.

Estrias de Caspary são depósitos de material hidrofóbico, nomeadamente cutina e suberina, nas paredes transversais e anticlinais das células endodérmicas, que impedem a via apoplasto da água e solutos do córtex em direção ao cilindro vascular (Robards e Robb, 1972). Ou seja, a endoderme funciona como reguladora do fluxo interno de íons e água. Algumas plantas parasitas não possuem endoderme porque a seleção do que deve passar para a circulação já foi feita pela endoderme da planta hospedeira. A ausência dessa estrutura nas raízes de *S. marginatus* pode ser evidência da falta de necessidade das mesmas em realizar qualquer tipo de filtragem de solutos, ou absorver água e nutrientes de forma não parasitária, isso é, sem o intermédio de haustórios. Porém, tais estrias podem ocorrer em hemiparasitas de raízes da ordem Santalales, como em *Olax phyllanthi* (Kuo et al., 1989).

As raízes de dicotiledôneas, em geral, apresentam crescimento secundário. Tal crescimento resulta da atividade de dois meristemas secundários ou laterais – câmbio e felogênio. O felogênio geralmente se forma a partir do periciclo proliferado, ou seja, internamente a endoderme, resultando no descarte de todo o córtex (Appezato-Da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2012). Porém, foi observado que na raiz de *S. marginatus*, a periderme se desenvolve subjacente à epiderme, semelhante ao

padrão usual caulinar. Além dessa característica, o amadurecimento tardio da medula e o início do crescimento secundário precoce, formando xilema e floema secundário dispostos em aspecto que se assemelha a feixes colaterais, entre os pólos de protoxilema, configuram um padrão não usual de crescimento secundário radicular.

De certa forma, quando uma estrutura anatômica é analisada apenas em crescimento secundário avançado, essa análise pode se tornar equivocada, levando a confusão quanto a classificação de órgão como sendo caulinar ou radicular. Nem sempre a classificação anatômica é de fato conclusiva quando apenas a estrutura adulta é observada, pois durante o processo de desenvolvimento várias modificações podem ocorrer. Portanto, tornam-se imprescindíveis os estudos anatômicos de desenvolvimento que possam esclarecer esses assuntos, evidenciando a existência de raízes altamente modificadas e muito particulares.

Muitas plantas vasculares produzem e usam amido como meios de preservar energia e na maioria das espécies estudadas, verifica-se a diminuição dos grãos de amido na região periférica da raiz. No entanto, em *S. marginatus*, não há perda acentuada de amido.

A presença de tilos contendo grãos de amido no lenho da raiz de *S. marginatus* foi uma característica muito interessante, por três motivos: primeiro, pelo fato desses tilos ocorrerem em amostras obtidas na primavera, porém, sendo ausentes nas amostras obtidas no verão. Segundo, pelo fato de ocorrerem em cerca da metade dos elementos de vaso de forma aleatória, ou seja, não se limitando à posição central, mais antiga do lenho. Terceiro, pelo fato desses tilos serem preenchidos com grãos de amido.

Os tilos são, em geral, definitivos, porém a presença dessas estruturas em uma época do ano, e sua ausência em outra, observada no presente trabalho, é evidência de que em *S. marginatus* os tilos são produzidos e depois regridem. Por não serem limitados aos elementos de vaso mais antigos, é sinal de que esses tilos não pertencem ao cerne do lenho. A presença de grãos de amido em tilos é incomum (Micco et al., 2016), e nos poucos relatos de tilos em Loranthaceae encontrados no levantamento bibliográfico do presente trabalho (Patel, 1991), não houve menção para a presença de amido nos mesmos. Talvez essa particularidade

dos tilos da raiz de *S. marginatus* confere aos mesmos o caráter dinâmico de serem formados e regredirem pela respectiva produção e consumo dos grãos de amido. Tais tilos são um material interessante para o desenvolvimento de estudos ultraestruturais e fisiológicos, e sua função pode estar associada à prevenção e/ou reversão de embolia nos vasos (Bonsen e Kučera. 1990).

5. Conclusões

Os resultados obtidos demonstram características peculiares na estrutura do sistema radicular de *S. marginatus*, mesmo desconsiderando os haustórios. O desenvolvimento da raiz adventícia possui um modelo diferenciado semelhante ao padrão caulinar, no qual a origem do felogênio não é pericíclica e as estrias de Caspary são ausentes enquanto que os elementos de vaso possuem grãos de amido dinâmicos. Todos esses fatores reunidos demonstram que esta é uma espécie com atributos únicos, os quais estão diretamente ligados com o hábito epífito e parasita, e de grande relevância para futuros estudos de ultraestrutura e fisiologia.

Referências

- Alencar, J., Cordeiro, W.P.F., Staples, G., Buriel, M.T., 2019. Convolvulaceae no Parque Nacional de Sete Cidades, Estado do Piauí, Brasil. *Hoehnea* 46, e992018.
- Alkema, J.E., 2003. Vectors, viscin, and Viscaceae: mistletoes as parasites, mutualists, and resources. *Front. Ecol. Environ.* 1, 212-219.
- Alkema, J.E., Martínez-Del-Río, C., 2002. Variation in mistletoe seed deposition: effects of intra- and interspecific host characteristics. *Ecography* 25, 139-144.
- Appenzato-Da-Glória, B., Carmello-Guerreiro, S.M., 2012. *Anatomia Vegetal*. 3ª ed. Editora UFV, Viçosa.
- Arruda, R., Fadini, R.F., Carvalho, L.N. Del-Claro, K.; Mourão, F.A.; Jacobi, C.M.; Teodoro, G.S.; Van-den-Berg, E.; Caires, C.S.; Dettke, G.A., 2012. Ecology of neotropical mistletoes: an important canopy-dwelling component of Brazilian ecosystems. *Acta Bot. Bras.* 26, 264-274.
- Baluska, F., Mancuso, S., 2013. Root apex transition zone as oscillatory zone. *Front. Plant Sci.* 4, 354. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00354>
- Baluska, F., Mancuso, S., Volkmann, D., Barlow, P., 2004. Root apices as plant command centres: the unique 'brain-like' status of the root apex transition zone *Biologia*, Bratislava, 13, 7-19.
- Berlyn, G.P., Miksche, J.P., 1976. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. Iowa State University, Ames.
- Blackman, J., Yeung, E.C., 1981. Aerial root cap structure of an orchid, *Epidendrum*. *Can. J. Bot.* 59, 1702-1708.
- Bonsen, K.J.M., Kučera, L.J., 1990. Vessel occlusions in plants: morphological, functional and evolutionary aspects. *IAWA Bulletin* 11, 393-399.
- Bozzola, J.J., Russell, L.D., 1992. *Electron Microscopy*. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 1992.
- Chiu, S.T., 2005. The Hyperparasitism by *Taxillus tsaii* S. T. Chiu (Loranthaceae). *Coll. Res.Libr.* 18, 51-63.

Dettke, G.A., Caires, C.S., 2015. Loranthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available in: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB152> Acess in Feb, 2020.

Gabe, M., 1968. Techniques Histologiques. Massie e Cie, Paris, 1113.

Howell, B.E., Mathiasen, R.L., 2004. Growth impacts of *Psittacanthus angustifolius* Kuijt on *Pinus oocarpa* Schiede in Honduras. Forest Ecol. Manag. 198, 75-88.

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book, New York.

Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. J. Cell Biol. 27, 137-138.

Kuijt, J., 1964. Critical observations on the parasitism of new world mistletoes. Can. J. Bot. 48, 1243-1278.

Kuijt, J., 1969. The Biology of Parasitic Flowering Plants. University of California Press, Berkeley, CA.

Kuijt, J., 2009. Monograph of *Psittacanthus* (Loranthaceae). Syst. Bot. Monogr. 86, 1-361.

Kuo, J., Pate, J.S., Davidson, N.J., 1989. Ultrastructure of the haustorial interface and apoplastic continuum between host and the root hemiparasite *Olax phyllanthi* (Labill.) R. Br. (Olacaceae). Protoplasma 150, 27-39.

Leitão, C.A.E., 2018. Working optimally with serial sections in glycol methacrylate resin. Braz. Arch. Biol. Technol. 61, e18180103.

Lozano-Baena, M.D., Prats, E., Moreno, M.T., Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A., 2007. *Medicago truncatula* as a model for nonhost resistance in legume-parasitic plant interacts. Plant Physiol. 145, 437-449.

Maia, V., 1979. Técnica Histológica. Atheneu, São Paulo.

Martins, L.G.S., Vale, L.S., Lainetti, R., Pereira, N.A., 2006. Um estudo sobre a toxicidade da erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus*, Loranthaceae), parasitando trombeteira (*Datura suaveolens*, Solanaceae). Rev. Bras. Farmacol. 87, 63-64.

Mauseth, J.D., Hsiao, S.C.; Montenegro, G., 1992. Vegetative body of the parasitic angiosperm *Ombrophytum subterraneum* (Balonophuraceae). Bull. Torrey B. Club. 119, 407-417.

Micco, V., Balzano, A., Wheeler, E.A., Baas, P., 2016. Tyloses and gums: a review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. IAWA Journal 37, 186-205.

Mourão, F.B, Jacobi, C. M., Figueira, J.E.C. Batista, E.K.L., 2009. Effects of the parasitism of *Struthanthus flexicaulis* (Mart.) Mart. (Loranthaceae) on the fitness of *Mimosa calodendron* Mart. (Fabaceae), an endemic shrub from rupestrian fields over ironstone outcrops, Minas Gerais State, Brazil. Acta Bot. Bras. 23, 820-825.

Mourão, F.A., Pinheiro, R.B.P., Jacobi, C. M.; Figueira, J.E. 2017. Resource-directed foraging of the neotropical mistletoes *Struthanthus flexicaulis* (Loranthaceae). Plant Biol. 19, 592-598.

Nickrent, D.L. The parasitic plant connection. Parasitic plant genera and species. Tabela atualizada em 2019. Available in: <http://www.parasiticplants.siu.edu/ParPlantNumbers.pdf> . Acess in Jan 30, 2020. <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/pathogengroups/pages/parasiticplants.aspx> . Acess in Feb 10, 2020. doi:10.1094/PHI-I-2004- 0330-01.2016.

Nickrent, D.L., Malécot, V., Vidal-Russell, R., Der, J.P., 2010. A revised classification of Santalales. Taxon. 59, 538-558.

O'Brien, T.P., Federa, N.; Mccully, M.E., 1964. Polyehromatic staining of plant cell walls by Toluidine blue O. Protoplasma. 59, 368-373.

Patel, R.N., 1991. Wood anatomy of the dicotyledons indigenous to New Zealand. Loranthaceae. New Zealand J. Bot. 29, 429-449.

Pearse, A.G.E., 1972. Histochemistry: theoretical and applied. The Williams and Wilkins Co, Baltimore.

Pizzolato, T.D., Lillie, R.D., 1973. Mayer's tannic acid–ferric chloride stain for mucins. J. Histochem. Cytochem. 21, 56–64.

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 2014. Biologia Vegetal, 8.ed., Guanabara-Koogan.

Reif, C.; Andreato, R.H.P., 2011. Contribuição à taxonomia de Loranthaceae no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Caderno de Pesquisa, Série Botânica. 2, 71-115.

Ribeiro, V.C., Leitão, C.A.E., 2020. Utilisation of Toluidine blue O pH 4.0 and histochemical inferences in plant sections obtained by free-hand. Protoplasma 257, 993-1008.

Robards, A.W., Robb, M.E., 1972. Uptake and binding of uranyl ions by barley roots. Science. 178, 980-982.

Rotta, E., 2001. Erva-de-passarinho (Loranthaceae) na arborização urbana: passeio público de Curitiba, um estudo de caso. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR.

Sant'Ana, I.S., 2012. Anatomia do haustório secundário da hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler, respostas fisiológicas e seus efeitos em distintas hospedeiras. Brasília – DF. UNB, 2012. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília.

Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2010. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC.

Simpson, B.B., 1989. Krameriaceae. Flora Neotropica Monograph. Botanical Garden, New York. 49, 88.

Vidal, B.C., 1977. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. Cell Mol. Biol. 22, 45-64.

Whiteman, P., 1973. The Quantitative determination of glycosaminoglycans in urine with Alcian Blue 8GX. Biochem. J. 131, 351-357.

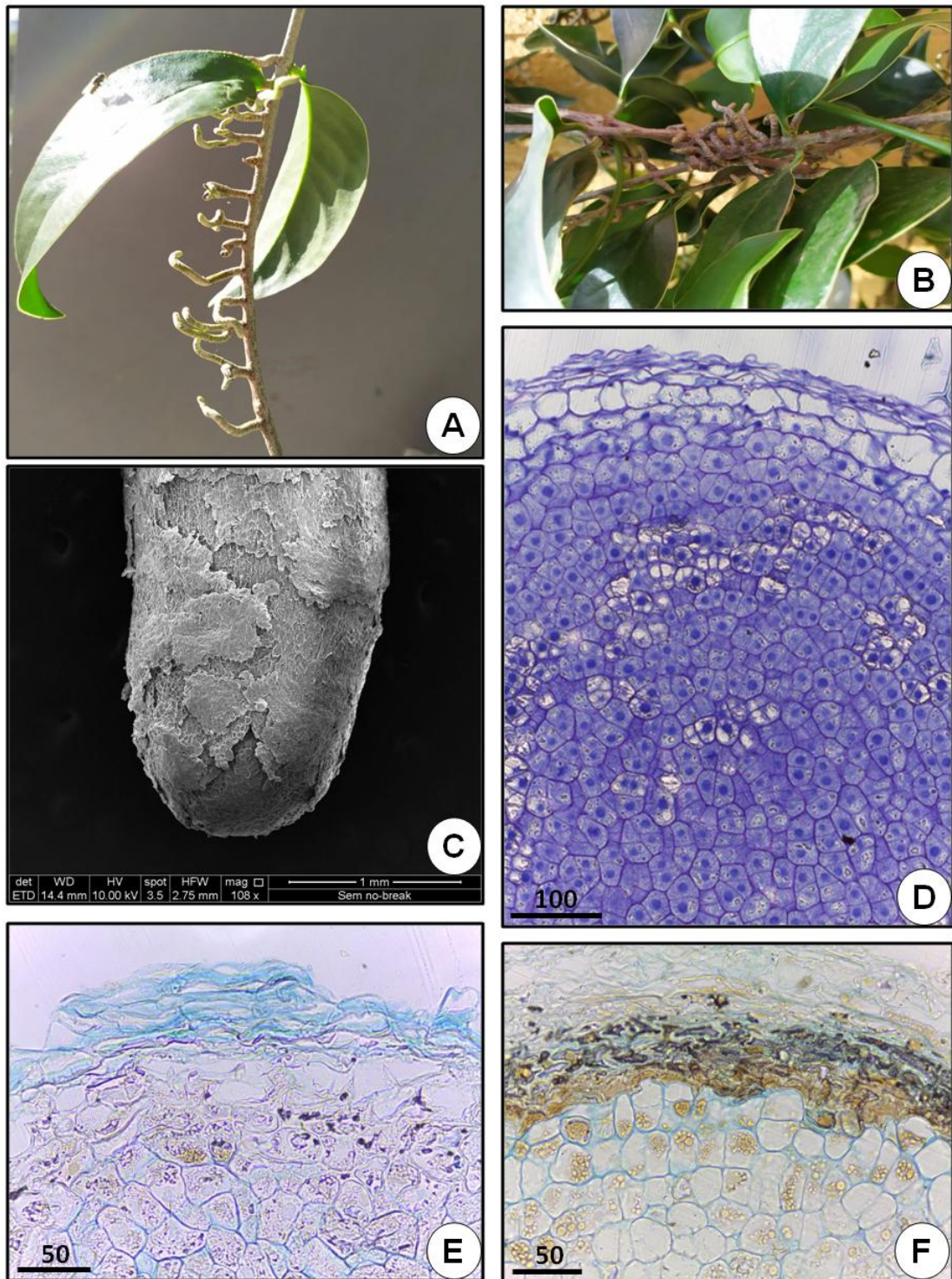


Figura 1. Aspecto externo e região apical das raízes adventícias de *Struthanthus marginatus*. A. Visão geral das raízes em formato retilíneo e sequencial. B. Raízes volúveis enroladas em torno de outro ramo de *S. marginatus*. C. Ápice da raiz em microscopia de varredura evidenciando a descamação das células da coifa. D. Corte longitudinal do ápice radicular em panorama, corado com Azul de Toluidina. E. Corte transversal do ápice da raiz em detalhe coifa com células colapsadas com afinidade para o teste Azul de Alciano. F. Corte transversal do ápice em detalhe do caliptrógeno contendo compostos fenólicos, corado com Azul de Alciano. Barras de escala em micrômetros.

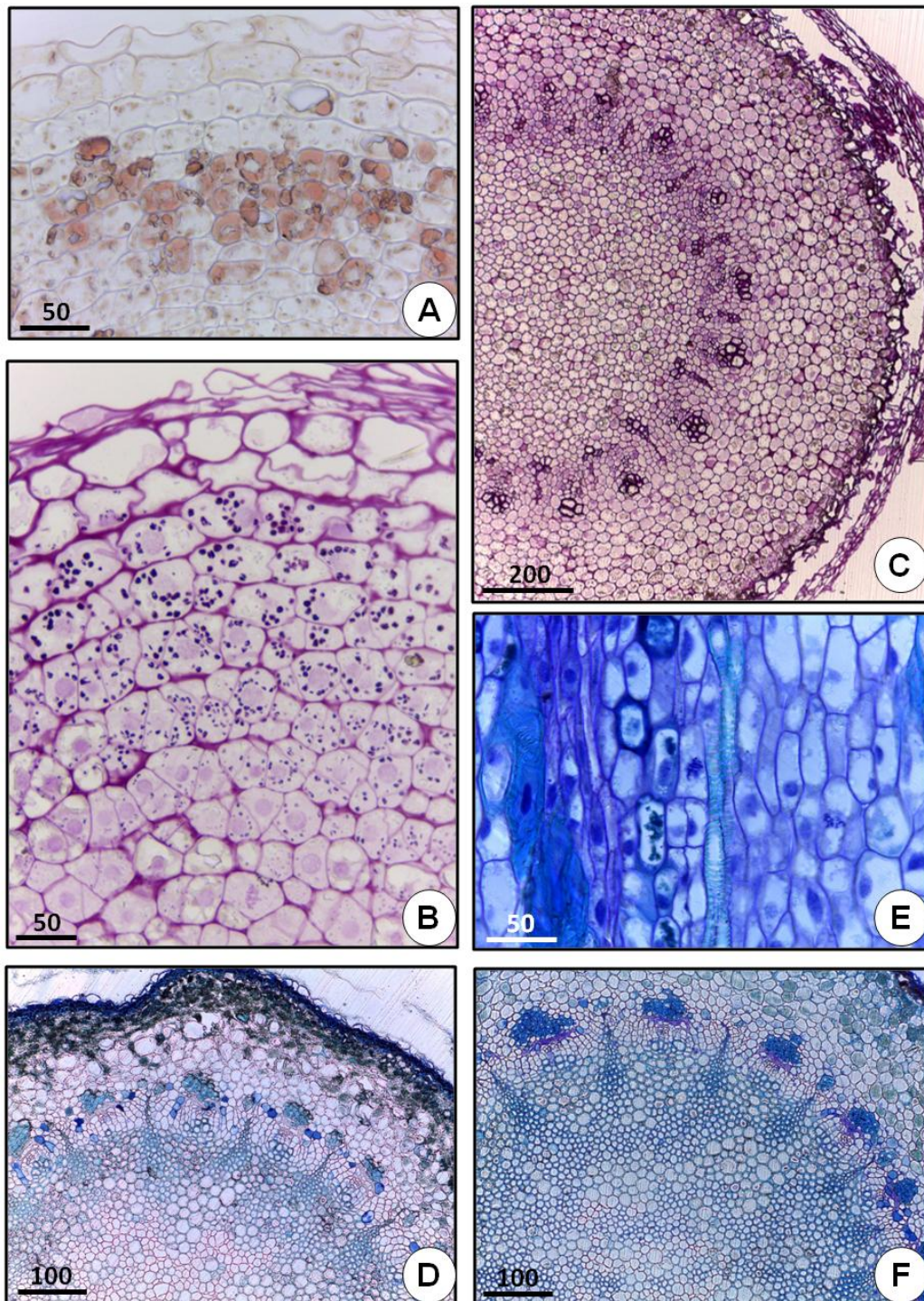


Figura 2. Anatomia e histoquímica da porção jovem da raiz de *Struthanthus marginatus*. A. Corte transversal do ápice evidenciando células cúbicas cujo conteúdo é positivo ao teste com Xylydine Ponceau de detecção de proteínas. B. Corte transversal do ápice em detalhe, com células contendo grãos de amido evidenciados pelo teste PAS. C: Corte transversal a 3 mm do ápice evidenciando os pólos de protoxilema formando os raios. D: Corte transversal a 6 mm do ápice, ilustrando o amadurecimento precoce dos elementos de metaxilema. Azul de Toluidina. E: Corte longitudinal da periferia do ápice, com células procambiais em atividade mitótica. F: Corte transversal a 10 mm do ápice onde o desenvolvimento dos tecidos vasculares primários está concluído. Azul de Toluidina. Barras de escala em micrômetros.

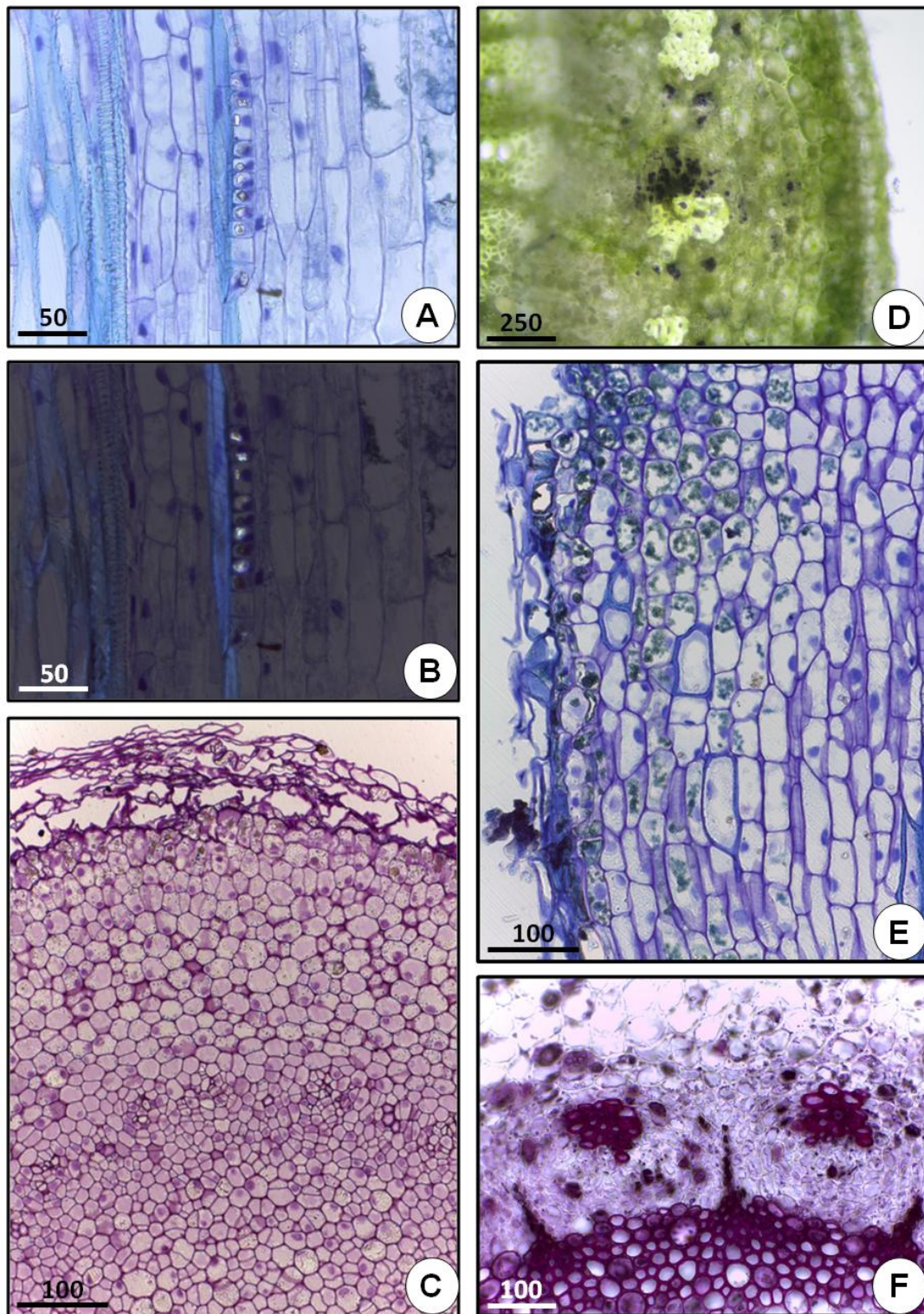


Figura 3. Anatomia e histoquímica do ápice aos 10 mm da raiz de *Struthanthus marginatus*. A. Corte longitudinal da periferia da raiz, com monocristais prismáticos em fileira associados à fibras. B. Como em A, porém em luz polarizada. C. Corte transversal próximo ao ápice, evidenciando córtex com 12 camadas de células. PAS. D. Corte transversal fresco corado com Lugol próximo ao ápice, evidenciando córtex clorofiliano algumas células amilíferas. E. Corte longitudinal da periferia evidenciando células fenólicas. Azul de Toluidina. F. Corte transversal a 10 mm do ápice, corado com Safranina, sem estrias de Caspary evidentes. Barras de escala em micrômetros.

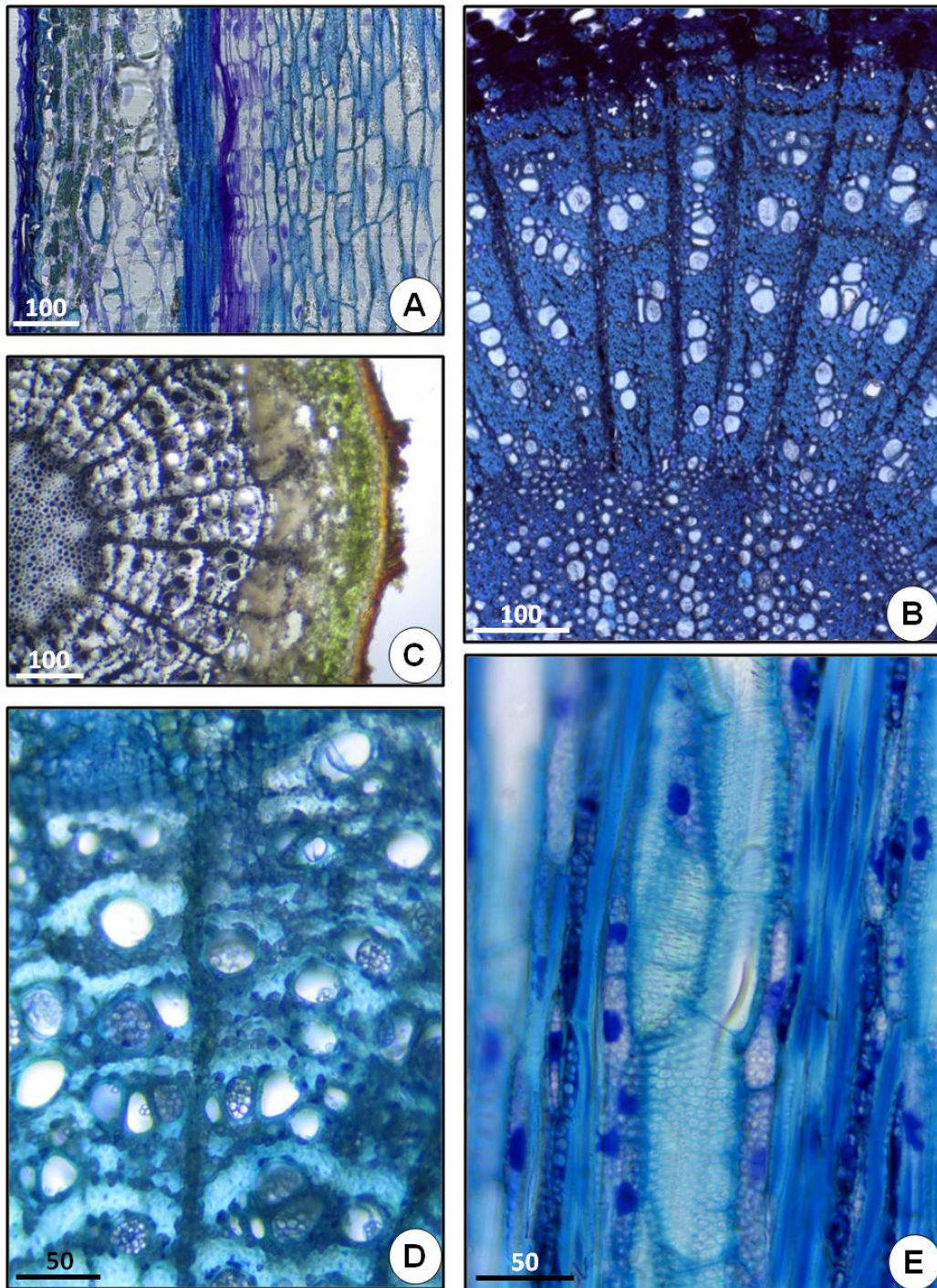


Figura 4. Cortes anatômicos da raiz de *Struthanthus marginatus* em crescimento secundário. A. Corte longitudinal a 10 mm do ápice. Fibras fortemente coradas com teste Azul de Toluidina. B: Corte transversal a 20 mm do ápice de amostras obtidas no verão, evidenciando parênquima axial em faixas e raios multisseriados. C. Corte transversal da raiz em crescimento secundário avançado, obtida na primavera, mostrando a permanência do córtex clorofiliano e elementos de vaso contendo grãos de amido evidenciados pelo Lugol. D. Corte transversal da raiz em crescimento secundário avançado obtida na primavera evidenciando tilos contendo grãos de amido. Azul de Toluidina. E: Corte longitudinal do lenho em detalhe, ilustrando elementos de vaso com placa de perfuração simples e padrões de espessamento reticulado e pontado. Barras de escala em micrômetros.

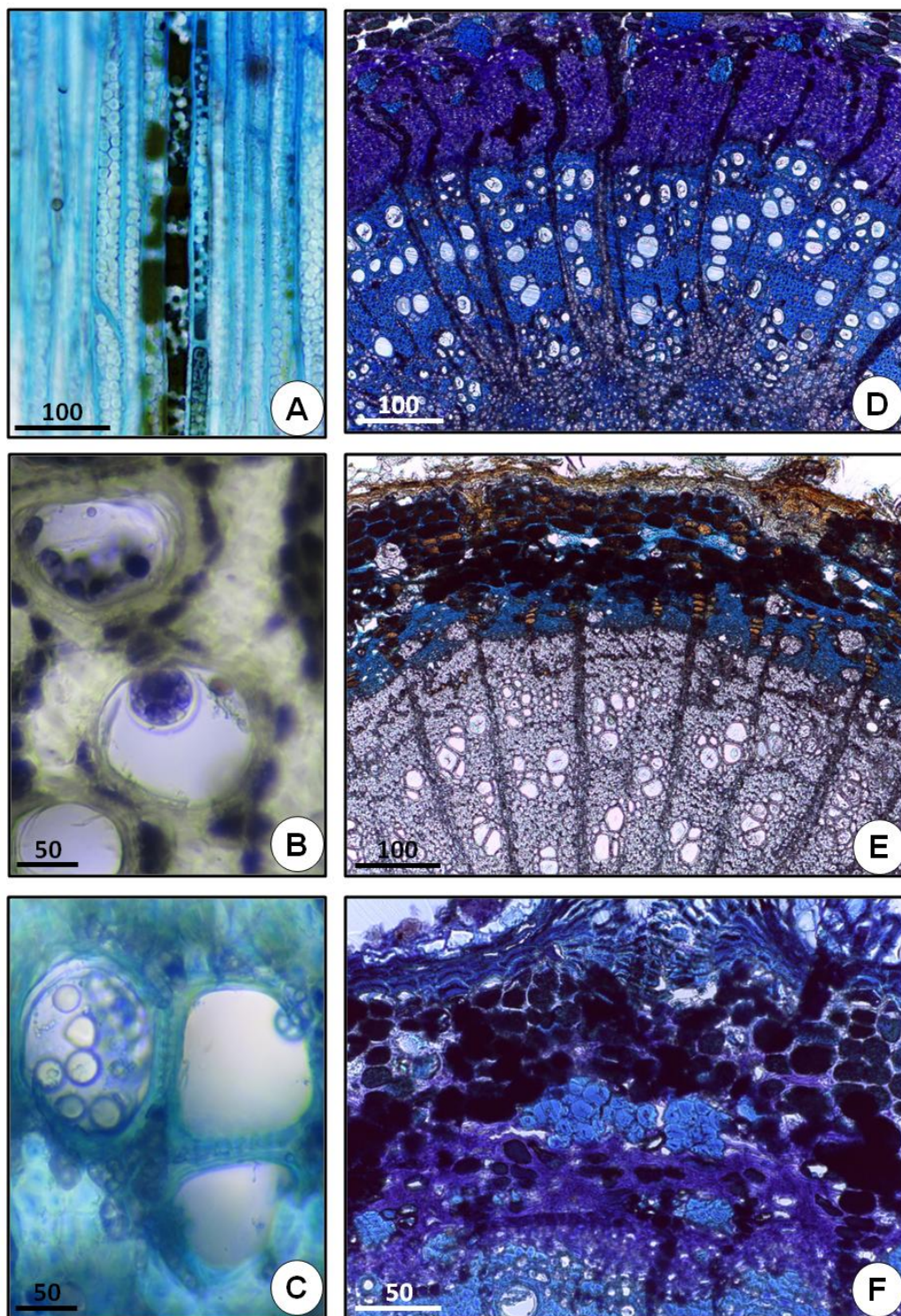


Figura 5. Cortes anatômicos da raiz de *Struthanthus marginatus* em estágio avançado de crescimento secundário. A. Corte longitudinal da raiz evidenciando células parenquimáticas do lenho que acumulam amido, bem como compostos fenólicos. B. Corte transversal do lenho, em detalhe células parenquimáticas emitindo, para dentro dos elementos de vaso, tilos contendo grãos de amido. Lugol. C. Como em B, porém corado com Azul de Toluidina. D. Corte transversal evidenciando o floema secundário volumoso, formando uma série longitudinal estratificada com fibras associadas. Azul de Toluidina. E. Corte transversal da raiz em panorama, com formação da periderme na periferia do córtex. F. Corte transversal da raiz com lenticela e células fenólicas em detalhe. Barras de escala em micrômetros.