

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

ANDERSON POLLI

Análise estrutural do pericarpo e da semente de três espécies de
Phoradendron Nutt. (Viscaceae)

Maringá
2013

ANDERSON POLLI

Análise estrutural do pericarpo e da semente de três espécies de
Phoradendron Nutt. (Viscaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia das Interações Orgânicas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza

Maringá
2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

P774a Polli, Anderson
Análise estrutural do pericarpo e da semente de três espécies de Phoradendron Nutt. (Viscaceae) / Anderson Polli. -- Maringá, 2013.
61 f. : il., color., figs., fotos.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, 2013.

1. Erva-de-passarinho. 2. Fruto. 3. Ontogênese. 4. Hemiparasitismo. 5. Viscina. I. Souza, Luiz Antonio de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada. III. Título.

CDD 21.ed. 582.1

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANDERSON POLLI

Análise estrutural do pericarpo e da semente de três espécies de
Phoradendron Nutt. (Viscaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá/UEM, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia das Interações Orgânicas pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)/UEM

Prof. Dra. Maria Auxiliadora Milaneze Gutierrez
Universidade Estadual de Maringá/UEM

Prof. Dra. Adelita Aparecida Sartori Paoli
Universidade Estadual Paulista/UNESP

Aprovado em: 25/02/2013

Local de defesa: Anfiteatro do Mudi, *campus* sede da Universidade Estadual de Maringá

DEDICATÓRIA

À Comunidade Botânica Brasileira, em especial aos que se dedicam à pesquisa em anatomia e morfologia vegetal, para que possam usá-lo como base para investigações posteriores.

A toda minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida...

Ao **Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza**, meu orientador, pela generosidade, estímulo ao trabalho e sabedoria com que me acompanhou no percurso da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada/PGB, e à Universidade Estadual de Maringá/UEM, pela oportunidade de realização deste trabalho.

A toda equipe do Laboratório de Anatomia e Morfologia Vegetal, em especial (**Fabiana, Luciane, Karina e Rosimar**) pela incalculável ajuda oferecida durante os procedimentos usuais realizados, companheirismo, paciência, momentos de descontração, incentivo e compartilhamento de técnicas e conhecimentos.

A todos os pesquisadores que dedicaram e dedicam a vida ao conhecimento das plantas parasitas e que me colocaram em contato com esta temática interessante por meio de suas obras. Em especial a **Gretta Aline Dettke** e **Jesiani Rigon** pela troca de conhecimento e esclarecimentos, pelo fornecimento de trabalhos/artigos para o meu acervo bibliográfico.

Aos meus queridos pais **Ewerson** e **Teresa**, por terem sempre me apoiado nos estudos, e compartilharem comigo momentos de escolhas e conquistas.

À secretária **Maria Helena Leonel** (Marcinha), aos técnicos **Nelson** e **Cíntia** (Comcap) pela dedicação ao trabalho, respeito e disposição em ajudar.

Ao inestimável amigo **Murilo Lucini Dias**, por ter me ajudado na coleta de materiais, por ter me acompanhado em análises de observação de campo, pela amizade a mim devotada durante minha estadia aqui em Maringá.

À Fundação Araucária e Capes pela concessão da bolsa.

Muito obrigado!

Análise estrutural do pericarpo e da semente de três espécies de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae)

RESUMO

Entre as angiospermas, poucas famílias botânicas, como Viscaceae, desenvolveram o hábito parasitário. *Phoradendron* Nutt., gênero incluído nesta família, compreende plantas hemiparasitas aéreas, clorofiladas, encontradas preferencialmente no alto da copa da planta hospedeira. Associada ao parasitismo, a presença de flores unissexuais, ausência de tegumento nas sementes, simplificação do gineceu e a formação de massa viscosa no pericarpo do fruto, são fatores de convergência evolutiva, pois estão correlacionados às formas de propagação destas espécies. *Phoradendron* é notadamente bem representado no continente americano, sendo comumente designado como “erva-de-passarinho”, pois seus frutos são consumidos e disseminados por aves frugívoras. Diante, portanto, da importância botânica e ecológica e da necessidade de estudos de ontogênese dos órgãos reprodutivos dessas plantas parasitas, o presente estudo objetivou a análise estrutural do pericarpo e da semente em desenvolvimento de três espécies - *Phoradendron dipterum* (Kunth) Trel.; *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach.; *P. piperoides* (Kunth) Trel. - com finalidade de contribuir com a caracterização das espécies/alianças e a definição do tipo de fruto. O material botânico coletado foi processado segundo técnicas usuais para análise em microscopia de luz e em microscopia eletrônica de varredura. As três espécies apresentam frutos originados de ovário ínfero, cuja parede é formada por epiderme externa unisseriada; mesofilo diferenciado em três zonas histológicas distintas, sendo duas de natureza parenquimática e a região precursora da camada de viscina, que apresenta evidências de divisões celulares em diferentes planos. A epiderme interna é pouco distinguível, constituída por células de contorno variável, de paredes delgadas, podendo sofrer divisões periclinais. Na diferenciação do pericarpo ocorrem poucas alterações estruturais, verificando-se principalmente mudanças na camada média, formando-se duas regiões, uma de natureza parenquimática, e a outra que se diferencia na camada de viscina. O fruto maduro consiste de exocarpo epidérmico, mesocarpo parenquimático externo com drusas e esclereídes, mesocarpo médio e interno parenquimáticos mais ou menos comprimidos, e camada de viscina; o endocarpo é colapsado. De acordo com a origem ínfera, o fruto deve ser enquadrado como um subtipo de pomáceo. A vascularização do fruto é feita por feixes vasculares colaterais distribuídos em dois anéis, sendo que no interno podem ocorrer feixes invertidos. As três espécies apresentam semente ategumentada, originada de um único óvulo reduzido e tenuinucelado. Por sua vez, a semente madura apresenta endosperma e embrião clorofilados já diferenciados. No endosperma distingue-se a epiderme unisseriada e tecido parenquimático, cujas células são poliédricas, de contorno variável, com cloroplastídios e notável conteúdo amiláceo; nele podem ocorrer idioblastos com drusas. O embrião é reto, com eixo hipocótilo-radicular relativamente curto e livre do endosperma, plúmula não evidente e dois cotilédones reduzidos. Os frutos e as sementes das três espécies são estruturalmente semelhantes apresentando poucos caracteres diferenciáveis.

Palavras-chave: erva-de-passarinho; fruto; ontogênese; hemiparasitismo; viscina.

Structural analysis of the pericarp and seed of three species of *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae)

ABSTRACT

Among angiosperms, a few plant families, as Viscaceae, developed the parasitic habit. *Phoradendron* Nutt., genus included in this family, comprises aerial hemiparasites plants, chlorophyllated, preferentially found at the top canopy of the host plant. Associated with parasitism, the presence of unisexual flowers, absence of seed coat in seeds, simplifying the gynoecium and the formation of viscous mass in the pericarp of the fruit, are factors of evolutionary convergence, since they are related to forms of propagation of these species. *Phoradendron* is particularly well represented in the American continent, and is commonly referred to as "birdie herb" because its fruits are eaten and spread by frugivorous birds. Given, therefore, the botanical and ecological importance and the need for studies of ontogeny of the reproductive organs of these parasitic plants, the present research aimed the structural analysis of the pericarp and seed in development of three species - *Phoradendron dipterum* (Kunth) Trel.; *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach.; *P. piperoides* (Kunth) Trel. - with the purpose of contributing to the characterization of species / alliances and defining the type of fruit. The botanical material collected was processed by usual techniques for analysis by light microscopy and scanning electron microscopy. The three species have fruit sourced from infer ovary, whose wall is formed by external uniseriate epidermis, mesophyll differentiated into three distinct histological zones, two of nature and parenchymatous, region viscina precursor layer, which shows evidence of cell division in different planes. The inner epidermis is slightly distinguishable, consisting of cells with variable outline, thin walls, which may undergo periclinal division. In the pericarp differentiation a few structural changes occur, being changes in the middle layers mainly verified, composing two regions, one of parenchymatous nature, and the other one which differs in viscina layer. The ripe fruit consists of epidermal exocarp, external parenchymatous mesocarp with druses and sclereids, middle and inner mesocarp with parenchyma more or less compressed, and viscina layer; the endocarp is collapsed. According to the source infer, the fruit should be seen as a subtype of pomaceous. The vascularization of the fruit is made by collateral vascular bundles distributed in two rings, and can occur in internal beams reversed. The three species have seed no integument, originated from a single egg and reduced tenuinucellate. In turn, the mature seed endosperm and embryo chlorophyllous has already differentiated. In the endosperm, uniseriate epidermis and parenchymatous tissue are distinguishable, whose cells are polyhedral of variable outline, with chloroplasts and visible starch content; in this organelle, idioblasts with druses may occur. The embryo is straight, with hypocotyl-root axis relatively short and free from the endosperm, plumule is not evident and two cotyledons are reduced. The fruits and seeds of the three species are structurally similar with a few differentiable characters.

Keywords: birdie herb; fruit; ontogenesis; hemiparasitismo; viscina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	
1.Introdução.....	10
2.Revisão Bibliográfica.....	14
2.1. Percurso evolutivo do parasitismo em angiospermas.....	14
2.2. Histórico taxonômico.....	17
2.3. Estudos morfoanatômicos de órgãos reprodutivos de Viscaceae.....	21
2.3.1. Caracterização estrutural da flor e do fruto em Viscaceae.....	21
2.3.2. Caracterização estrutural da semente em Viscaceae.....	23
2.4. Status de conservação das espécies em estudo no estado do Paraná/Brasil.....	24
3.Referências.....	26
 CAPÍTULO 2	
Desenvolvimento estrutural do pericarpo e da semente de espécies hemiparasitas aéreas de <i>Phoradendron</i> Nutt. (Viscaceae) em ambiente florestal semidecidual.....	34
 ANEXO	56

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

1. Introdução

Viscaceae compreende um grupo de plantas cujo hábito parasitário, de suas espécies, é uma das impressionantes adaptações do reino vegetal (WATSON, 2004). Destaca-se pela sua distribuição no continente americano, tendo maior diversidade na América do Sul (KUIJT, 2003), apresentando grande importância ecológica em vários ecossistemas, pois constitui fonte de alimento para vários grupos de aves frugívoras, as quais influenciam diretamente na regulação da dinâmica da vegetação natural e na restauração da biodiversidade em áreas degradadas (ARTEAGA *et al.*, 2006). Entretanto, cabe ressaltar os efeitos deletérios que tais espécies causam às plantas hospedeiras, devido à sobrecarga nutricional e hídrica, desencadeando irregularidades no crescimento, na floração, na formação de frutos e sementes, diminuição do vigor da planta parasitada, tornando-a susceptível ao ataque de patógenos que, ocasionalmente, pode levá-la a morte (RADI, 2007; MATHIASSEN *et al.*, 2008). A atividade parasitária dessas plantas pode resultar em perdas econômicas para o homem, já que são encontradas comumente em espécies frutíferas de importância comercial e aquelas utilizadas na indústria madeireira (MULLER-STOVER; HERSHENHOM, 2007).

Phoradendron Nutt., gênero objeto do presente estudo, é notadamente bem representado no Brasil, com aproximadamente 62 espécies, ocorrendo nos mais variados ecossistemas (REIF, 2004). Compreende ervas perenes, hemiparasitas aéreas, clorofiladas, encontradas sobre algumas espécies preferenciais de hospedeiras, as quais apresentam caracteres botânicos compatíveis (AUKEMA; RIO, 2002). Para Watson (2004) são consideradas fontes indicadoras da qualidade do ambiente, visto que em habitats mais íntegros, sua distribuição e abundância são reguladas. Em contrapartida, em um ambiente desestruturado a dinâmica destas parasitas pode sofrer alterações, e conseqüentemente, aumentar sua incidência a ponto de causar o declínio de espécies vegetais hospedeiras.

No Brasil, são relativamente raros os trabalhos morfoanatômicos envolvendo Viscaceae, pois existem poucas coletas botânicas devido à dificuldade de visualização, herborização e identificação. *Phoradendron* apresenta poucos caracteres diagnósticos fixos para diferenciação de suas espécies (BARBOSA, 2000), uma vez que não existem trabalhos na literatura que descrevam, de forma sucinta e bem elaborada, os órgãos reprodutivos desse gênero (ASHWORTH, 2000). Portanto, o estudo ontogênico de frutos e sementes é de fundamental importância para fornecer informações básicas para outras investigações biológicas relacionadas à manutenção, aproveitamento e controle do grupo, além de corroborar para a sistemática destas espécies.

De acordo com a literatura clássica, a delimitação das famílias de Santalales tem se mostrado instável, principalmente quanto ao posicionamento de Viscaceae. Para tanto, é de vital importância o conhecimento sistemático dos caracteres morfoanatômicos das famílias pertencentes a essa ordem, uma vez que *Phoradendron* Nutt., já esteve incluído em Loranthaceae e Santalaceae, porém análises moleculares e embriológicas têm confirmado sua inclusão em Viscaceae (NICKRENT *et al.*, 2010).

Levando-se em consideração que a fixação da planta parasita nos ramos da espécie hospedeira é facilitada pela presença de uma substância mucilaginosa/pegajosa, Venturelli (1981) investigou a morfoanatomia do pericarpo e sementes de algumas espécies de Loranthaceae e verificou se tratar de um fruto originado de ovário ínfero, preenchido por tecido viscoso secretado por células especializadas que formam a “camada de viscina”. De acordo com a autora, o pericarpo tem natureza parenquimática, ocorrendo grupos esparsos de braquisclereídes contendo cristais isolados de oxalato de cálcio e feixes vasculares na face interna do endocarpo. A autora considera, ainda, que a semente apresenta tegumento seminal colapsado ou ausente, endosperma e embrião clorofiláceos.

Judd *et al.*, (2009) afirmam que a forma de propagação das plantas parasitas está relacionada à estruturas reprodutivas incomuns, quando comparada com a da maioria das angiospermas. Diante, portanto, da forma de vida e da importância botânica e ecológica das plantas parasitas e da necessidade de investigações de órgãos reprodutivos das mesmas, o presente estudo objetivou a análise estrutural do pericarpo e da semente em desenvolvimento de *Phoradendron dipterum* (Kunth) Trel.; (fig.1); *P.piperoides* (Kunth) Trel. (fig.2) e *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach. (fig.3).



Fig. 1 – Hemiparasita *Phoradendron dipterum* sobre *Melia* sp. (santa-bárbara), mostrando os frutos em detalhe. Campus sede da Universidade Estadual de Maringá/UEM.

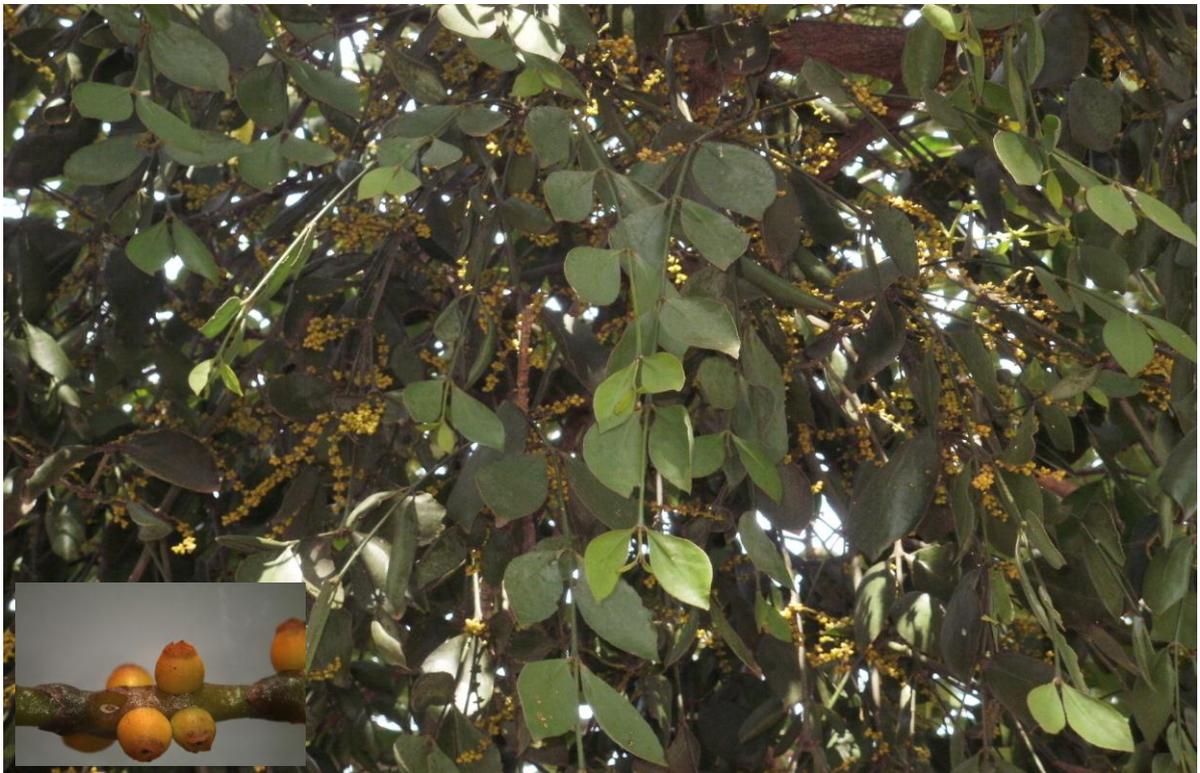


Fig.2 – Hemiparasita *Phoradendron piperoides* sobre *Ficus* sp. (figueira), mostrando os frutos em detalhe. Campus sede da Universidade Estadual de Maringá/UEM.



Fig.3 – Hemiparasita *Phoradendron quadrangulare* sobre *Tabebuia* sp. (ipê-roxo), mostrando os frutos em detalhe. Campus sede da Universidade Estadual de Maringá/UEM.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Percurso evolutivo do parasitismo em angiospermas

As angiospermas representam o grupo com maior biodiversidade do Reino Metaphyta, com adaptações bastante peculiares as mais diferentes condições exibidas no Planeta Terra, sendo, portanto, considerado a forma de vida vegetal dominante (RAVEN, 2001).

As plantas exercem forte relação ecológica com outros organismos vivos, podendo estabelecer diversas interações biológicas que podem ser harmônicas (planta/dispersores) ou desarmônicas (planta parasita/ planta hospedeira) (AUKEMA; RIO, 2002). Para Stewart & Press (1990) a maioria das relações ecológicas estabelecidas resulta num processo de coevolução dos organismos associados, podendo desenvolver uma relação obrigatória e/ou facultativa.

O parasitismo em plantas corresponde a cerca de 1% de todas as angiospermas atuais, tendo provavelmente o hábito parasitário iniciado em Olacaceae – família primitiva da ordem Santalales (MALÉCOT; NICKRENT, 2008). Atualmente, as famílias botânicas constituídas de plantas parasitas são um grupo cuja diversidade é de aproximadamente 4.500 espécies, as quais incluem desde arbustos, até ervas anuais e perenes, e estão representadas em praticamente todos os tipos de hábitat existentes (HEIDE-JORGENSEN, 2008).

Para Rizzini (1995) o parasitismo é uma característica convergente, que passou por um longo processo adaptativo, sofrendo vários eventos desde seu surgimento em angiospermas, uma vez que a planta parasita forma um sistema haustorial, o qual projetam-se estruturas em direção aos tecidos vasculares da planta hospedeira, sendo responsável pela alocação de água e nutrientes. Para Mathiasen *et al.*, (2008) a penetração dos haustórios nos tecidos do hospedeiro parece se dar de forma mecânica, já que nenhuma evidência de mecanismos químicos foi observada.

Santalales é um dos grupos filogenéticos de plantas parasitas mais expressivo em números de populações, sendo observadas várias tendências evolutivas, desde a mudança inicial de hábito (JOHRI; BHATNAGAR, 1960), exploração de ramos aéreos em detrimento da condição de parasitismo em raiz (KUIJT, 1969), níveis de dependência nutricional, modos de seleção de plantas hospedeiras (MAY, 1972), e surgimento de características estruturais incomuns (COCCUCI; VENTURELLI, 1982).

Um estudo recente mostrou que a diversificação de plantas parasitas ocorreu durante o Oligoceno, época em que as florestas temperadas constituídas de indivíduos de porte lenhoso

e folhas caducas deslocaram biomas tropicais (VIDAL-RUSSELL; NICKRENT, 2008). Tal condição teria influenciado a colonização de ramos aéreos em plantas hospedeiras. O parasitismo aéreo evoluiu cinco vezes em Santalales, havendo, portanto, convergência evolutiva associada ao hábito parasitário, tais como: presença de flores unissexuais, estruturas de fixação das sementes e menor quantidade de clorofila (Westwood *et al.*, 2010). Segundo Vidal-Russell & Nickrent (2008), Viscaceae compõe uma das primeiras linhagens envolvendo parasitismo aéreo, pois aparentemente divergiu cedo, há cerca de 72 milhões de anos, tendo um ancestral comum como Amphorogynae.

Quanto aos modos de nutrição, acredita-se que o holoparasitismo é uma condição derivada no grupo, presente em poucas espécies de Santalales, pois tal condição resulta na dependência total de recursos extraídos do xilema e floema do hospedeiro. Seu modo de vida representa a mais extrema manifestação do parasitismo, pois implica em adaptações morfofisiológicas bastante expressivas; desde a redução do corpo vegetativo, até mesmo a perda de cloroplastos e consequente ausência de capacidade fotossintética (NICKRENT *et al.*, 1998). Muitas espécies são subterrâneas e/ou vivem dentro dos tecidos da planta hospedeira, ficando visíveis apenas na época da floração, quando as flores brotam do solo/caule, se expondo aos polinizadores. Acredita-se que o holoparasitismo tenha evoluído independentemente em pelo menos oito grupos: Cynomoriaceae, Lennoaceae, Apodanthaceae, Cytinaceae, Mitrastemonaceae, Rafflesiaceae, Hydnoraceae e Balanophoraceae (NICKRENT, 2002).

O hemiparasitismo abrange número maior de espécies que o holoparasitismo, e caracteriza-se pela presença de clorofila e consequente realização do processo fotossintético em pelo menos parte do ciclo de vida, podendo ser divididas em facultativas, quando não necessitam de um hospedeiro para completar seu ciclo biológico, ou obrigatórias, quando tal associação faz-se necessária (KUIJT, 1969). De modo geral, são plantas fotossintetizantes que conectam-se a um hospedeiro para dele retirar água e sais minerais (diretamente do xilema), e instalam-se preferencialmente no alto das copas, uma vez que tal posicionamento favorece a captação da luz solar (CAZZETA; GALETTI, 2007). Nesse grupo, estão incluídas as ervas-de-passarinho, nome popular de diversas espécies de Olacaceae, Shoepfiaceae, Opiliaceae, Loranthaceae, Misodendraceae, Eremopelidaceae, Santalaceae, Viscaceae, Krameriaceae, havendo, portanto, Orobanchaceae que tem representantes de ambas as formas de nutrição (NICKRENT, 2002). São responsáveis por elevadas taxas de transpiração em relação à planta hospedeira, causando notório déficit hídrico e enfraquecimento da planta parasitada (HULL; LEONARD, 1964).

No ápice da história evolutiva do parasitismo encontram-se associações de plantas parasitas com outras plantas parasitas, desencadeando um processo de coevolução. Segundo Calvin & Wilson (2009) tais associações podem ser facultativas, sendo as plantas denominadas de hiperparasitas, ou podem ser obrigatórias, sendo então conhecidas como epiparasitas. Os autores afirmam que essas associações são bastante generalistas, de modo que se podem observar diversos tipos de combinações, inclusive com a participação de três espécies parasitas ao mesmo tempo.

A amplitude dos modos de seleção hospedeira é outra característica que foi sendo ajustada ao longo do tempo evolutivo. A maioria das espécies pode parasitar centenas de diferentes hospedeiros em diversas famílias; em contrapartida, uma pequena parcela desse grupo é estritamente especialista, sendo específica de um ou poucos hospedeiros (NORTON; CARPENTER, 1998). Diante disso, tais autores concluem que espécies generalistas têm maiores chances de sobrevivência em ambientes heterogêneos, enquanto que as espécies especialistas têm mais sucesso adaptativo em ambientes homogêneos.

Apesar de poderem parasitar uma diversidade de hospedeiros, as espécies generalistas apresentam tipos preferenciais e parasitam alguns hospedeiros mais frequentemente do que outros (KUIJT, 1969). Aukema (2003); Cazzeta & Galetti (2007) relataram vários fatores que estão associados nessa relação de compatibilidade, tais como; o tipo da casca, espessura da periderme, diâmetro dos ramos, idade da planta hospedeira, tamanho da copa, presença de espinhos e de vários compostos secundários. Isso corrobora com as observações de Radomiljac (1998), que afirma que a germinação das ervas-de-passarinho é pouco influenciada pelo substrato ao qual a semente está aderida, e que o tamanho do galho e a idade da planta hospedeira exercem forte efeito na persistência e no estabelecimento das plântulas.

Algumas características consideradas incomuns entre as angiospermas são observadas ao longo do percurso evolutivo em Santalales, tais como a ausência de tegumentos nas sementes, progressiva redução e/ou simplificação do gineceu, dos rudimentos seminiais, da placenta, e por vezes, a fusão dos cotilédones (COCCUCI; VENTURELLI, 1982; JOHRI *et al.*, 1992; BARROSO *et al.*, 1999). Segundo Kuijt (1969) tais tendências estão correlacionadas às formas de propagação e exigências de germinação das sementes sobre os hospedeiros.

A maior parte das ervas-de-passarinho possui a semente inserida num tipo especial de baga, que se caracteriza por possuir “camada de viscina”. Esta camada produz uma substância mucilaginosa pegajosa, cuja composição é marcada pela presença de xilose, arabinose, ácidos urônicos e aminoácido glicina, que tem a função de ajudar na passagem no trato digestório das aves e na aderência das sementes nos ramos dos hospedeiros (HEIDE-JORGENSEN,

2008). As aves ao regurgitarem, defecarem ou limparem seu bico e/ou plumagem, depositam os frutos e as sementes nos troncos de diversas árvores, havendo uma relação mutualista entre as aves e as hemiparasitas aéreas (MATHIASSEN *et al.*, 2008). Para tanto, Cazzeta & Galetti (2007) consideram que a abundância e a distribuição das ervas-de-passarinho influem diretamente na proporção de aves, que além de alimento por um longo período, servem de abrigo como lugares escolhidos para a nidificação.

2.2. Histórico taxonômico

Viscaceae é composta por arbustos eretos e/ou escandentes, clorofilados, cujos representantes são hemiparasitas aéreos, sendo caracterizados por possuir raízes haustoriais, com alta distribuição em áreas tropicais e subtropicais do planeta, e com menor frequência em áreas temperadas (RIZZINI, 1968). São comumente designadas na literatura inglesa como “*mistletoes*”, que significa viscos (JOLY, 1979; CRONQUIST, 1981; BARLOW, 1983). Estudos atuais apontam que a família conta com aproximadamente 530 espécies distribuídas em sete gêneros, sendo eles: *Arceuthobium*, *Dendrophthora*, *Ginjalloa*, *Korthalsella*, *Notothixos*, *Phoradendron* e *Viscum* (RIZZINI, 1978; JUDD *et al.*, 2009)

Viscaceae tem sido tradicionalmente incluída na ordem Santalales, da subclasse Rosidae, sendo considerada monofilética, baseado na ausência de tegumento nas sementes e na similaridade de DNA dos genes *rbcL* e DNAr 18S (CRONQUIST, 1981; JUDD *et al.*, 1999). No entanto, historicamente Viscaceae é tratada como subfamília - Viscoideae - pertencente à Loranthaceae, sendo assim designada até os anos 60. Baseado em estudos morfológicos da estrutura floral, estudos embriológicos e números cromossômicos (BARLOW, 1964), além do reconhecimento da origem divergente da camada de viscina, (KUIJT, 1969; JUDD *et al.*, 2009) as famílias foram consideradas distintas. No tratamento taxonômico de Cronquist (1981) Viscoideae é reconhecida como família Viscaceae, porém, Barroso *et al.*, (1984) mantiveram o gênero em Loranthaceae, dividindo-a em duas subfamílias, distinguidas pela presença (Loranthoideae) e ausência (Viscoideae) de um caulículo.

As análises moleculares das sequências de DNAr 18S indicaram o posicionamento de Loranthaceae próxima à Olacaceae, que é a família mais basal da ordem, enquanto Viscaceae estaria mais próxima à Santalaceae (NICKRENT; DUFF, 1996), visto que esta relação já havia sido estabelecida com base na posição do ovário (CALDER, 1983). Portanto, muitas das floras modernas e dos sistemas de classificação (por exemplo, CRONQUIST 1981;

ZOMLEFER 1994; STANNARD 1995; JUDD *et al.*, 1999) acataram a separação de Loranthaceae e Viscaceae. Deste modo, o APG II (2003), Judd *et al.*, (2009), APG III (2009) incluíram os gêneros de Viscaceae em Santalaceae.

Mediante a essa nova classificação, Der & Nickrent (2008) realizaram análise molecular de DNA ribossomal, e genes *matK* e *rbcL* de cloroplastos da família Santalaceae incluindo Viscaceae, e revelaram a formação de nove clados, sendo que o clado *Viscum*, equivalente à Viscaceae, é bem suportado como monofilético e com grande divergência genética de Santalaceae. Portanto, no presente trabalho é adotada a distinção entre as famílias citadas, mantendo a identidade de Viscaceae, que aparece como irmã do clado Amphorogyne (MATHIASSEN *et al.*, 2008) como mostra a figura 4.

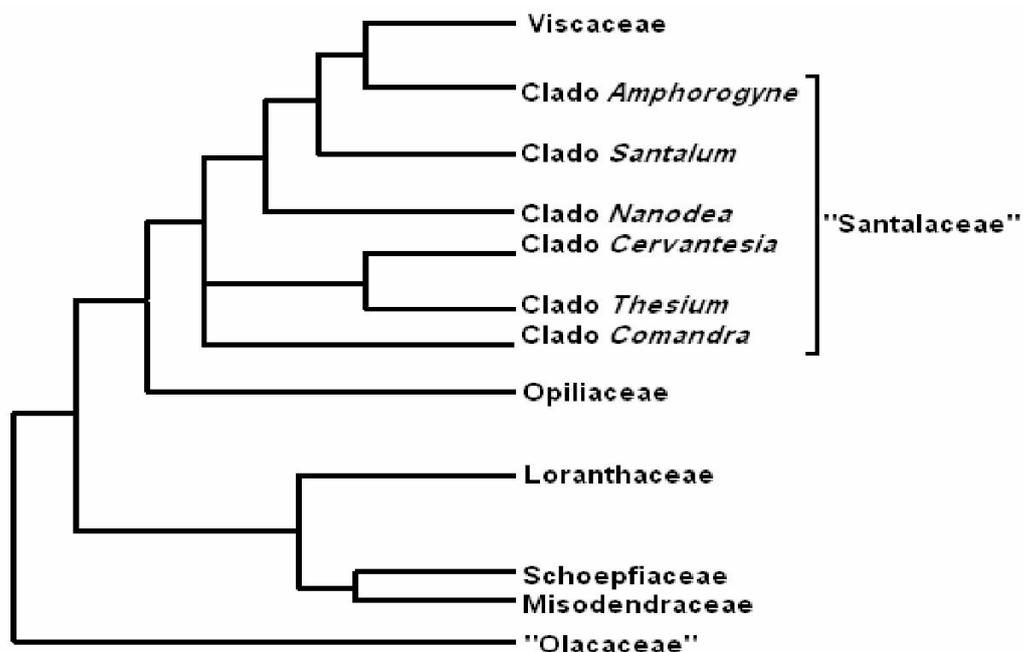


Fig. 4 - Relações entre os clados da ordem Santalales (modificado de Mathiasen *et al.*, 2008).

Nickrent *et al.*, (2010), em seus recentes estudos filogenéticos da ordem Santalales, continuam sustentando a monofilia de Viscaceae, corroborando os resultados de análises morfológicas realizadas por especialistas no grupo. Diante da aceitação *stricto sensu* da identidade de Viscaceae pela maioria dos pesquisadores, sete gêneros são inclusos nesta família. Cabe ressaltar que *Phoradendron* é um dos grupos filogenéticos mais expressivos em números de espécies e com ampla distribuição pelo continente americano (REIF; ANDREATA, 2006).

Phoradendron foi nomeado por Thomal Nuttall (1848) que o diferenciou de *Viscum*, seu equivalente do Velho Mundo (do grego *phor*: um ladrão, e *dendron*: árvore). Mais tarde,

Trelease (1916) e Rizzini (1968) confirmaram tais diferenças e acataram a separação das espécies americanas, das espécies europeias. Nuttall (1848) também separou o gênero *Phoradendron* e *Dendrophthora*, usando como critério o número de lóculos da antera, sendo as anteras biloculares para *Phoradendron*, em oposição às anteras uniloculares de *Dendrophthora*. Uma segunda distinção suposta entre estes gêneros seria com relação aos nichos ecológicos ocupados, uma vez que *Phoradendron* ocorre preferencialmente em baixas e médias altitudes, enquanto *Dendrophthora* é encontrado em grandes altitudes (WIENS; BARLOW, 1971).

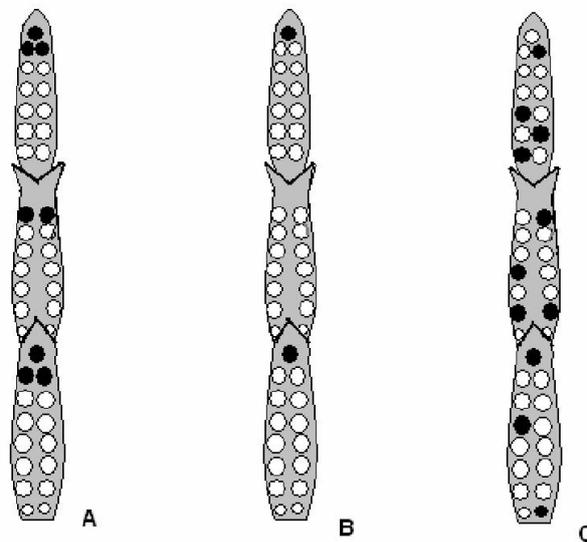
Devido à grande semelhança entre os dois gêneros acima citados, muitos materiais herborizados foram erroneamente identificados, muito embora a maior parte dos materiais que se encontra em herbários não possui as características necessárias para a identificação segura das espécies, devido à ocorrência de alta plasticidade fenotípica do gênero (RIZZINI, 1978). Portanto, além da particularidade das anteras, várias outras características são amplamente utilizadas para delimitação infragenérica de *Phoradendron*, tais como a presença, número e inserção de catáfilos, seriação das inflorescências e nervação foliar (ASHWORTH, 2000).

De acordo com Press & Graves (1995) uma das hipóteses que explica a ocorrência destas variações morfológicas em espécies de *Phoradendron*, estão correlacionadas à ocupação em vários habitats. Assim, os autores consideram que a identificação e a classificação hierárquica deste gênero é extremamente complexa e incerta. O gênero parece estar em uma fase evolutivamente ativa, e, portanto, os limites de alguns táxons e sua diferenciação interna, muitas vezes parece difícil de ser acomodado dentro de uma estrutura taxonômica padrão. Diante, portanto, da notória fragilidade taxonômica deste gênero, Kuijt (2003) ressalta a importância da realização de estudos morfológicos para melhor entendimento da evolução desse grupo e para que novos caracteres sejam acrescentados na delimitação das espécies.

As primeiras proposições de organização interna deste gênero foram sugeridas por Engler (1889), e posteriormente reformuladas por Tieghem (1896), os quais agruparam as espécies em “sessões”. Baseado nesse tipo de organização e em outras distinções morfológicas evidentes, Kuijt (2003) propôs um novo modelo, agrupando as espécies em “alianças”, utilizando dados estruturais da inflorescência, os quais incluem a posição e a dimensão das espigas na planta, distribuição sexual das flores, número de flores por bráctea fértil e o seu arranjo em série.

De acordo com o modelo de Kuijt (2003), as espécies em estudo, *Phoradendron piperoides*, *P. dipterum* e *P. quadrangulare*, encontram-se agrupadas em alianças diferentes.

A principal distinção morfológica das espécies referidas está relacionada com a distribuição sexual das flores nas espigas, sendo, portanto, aspecto de fundamental importância na delimitação das alianças. *Phoradendron dipterum* está inserida numa aliança, cujas espécies têm comportamento epiparasítico, com espigas providas de flores estaminadas dispostas em tríade apical no ápice de cada artúculo (Figura 5A). *Phoradendron piperoides*, por sua vez, é portadora de espigas providas de uma única flor estaminada disposta no ápice de cada artúculo (Figura 5B). Finalmente, *Phoradendron quadrangulare* apresenta espigas com flores estaminadas dispersas irregularmente entre as flores pistiladas (Figura 5C). Esses padrões são representados na figura abaixo:



flores estaminadas e pistiladas em uma mesma espiga

Fig. 5 - Padrões de distribuição das flores estaminadas e pistiladas nas espigas de *Phoradendron* A) flores estaminadas em tríade apical, B) flor estaminada uma no ápice de cada artúculo, C) flores estaminadas dispersas irregularmente entre as flores pistiladas. (Rigon, 2010).

Rigon (2010) realizou estudo taxonômico de *Phoradendron*, o qual contribuiu para o levantamento de espécies ocorrentes no estado do Paraná. Foram analisados materiais depositados em herbários e espécimes coletadas no campo, permitindo assim a elaboração de um diagnóstico descritivo de quatorze espécies, como *Phoradendron dipterum* (Kunth) Trel; *P. piperoides* (Kunth) Trel; *P. quadrangulare* (Kunth) Griseback ; *P. bathyoryctum* Eichler In Martius; *P. berterioanum* (DC) Grisebach; *P. chrysocladon* A. Gray; *P. coriaceum* Mart; *P. craspedophyllum* Eichler; *P. crassifolium* Eichler; *P. ensifolium* Nutt; *P. mucronatum* Krug & Urb; *P. obtusissimum* (Miq) Eichler; *P. reductum* Trel. e *P. undulatum* Eichler.

2.3. Estudos morfoanatômicos de órgãos reprodutivos de Viscaceae

2.3.1. Flor e fruto

A caracterização anatômica e morfológica dos órgãos reprodutivos de Viscaceae é incipiente no Brasil, devido à dificuldade de coleta, herborização e identificação das espécies (ASHWORTH, 2000). Os poucos pesquisadores que trabalham especificamente com o grupo enfatizam dados estruturais e morfológicos para a classificação taxonômica dessas plantas.

Kuijt (1969) descreve a estrutura floral dessa família, a qual é constituída por flores unissexuadas, reunidas em espigas articuladas e providas de brácteas na base de cada artículo. As flores podem ser axilares ou terminais, pequenas, inseridas em cavidades denominadas de “fóveas”, monoclamídeas, actinomorfas e apedunculadas. Para Judd *et al.*, (2009) as flores são consideradas inconspícuas, inodoras, formadas por três ou quatro pétalas, com prefloração valvar e antese diurna, provavelmente polinizadas por pequenos himenópteros (abelhas, vespas e formigas), podendo ocorrer simultaneamente polinização por elementos naturais (água e vento). A flor estaminada é constituída por pétalas pequenas, triangulares e por androceu isostêmone com anteras biloculares sésseis e deiscência rimosa. A flor pistilada é formada basicamente por um pequeno ovário unilocular, estilete curto e reto, e estigma indiferenciado, podendo apresentar um, dois ou três carpelos conados, rodeado por pequenas pétalas (KUIJT; KELLOGG, 1996).

Após a fecundação da flor, o ovário se desenvolve e forma um fruto simples, apocárpico, com um único lóculo, portando uma semente envolta por tecido viscoso, sendo classificado como “baga” (BARROSO *et al.*, 1999). Esse fruto apresenta pericarpo carnoso, preenchido por uma massa viscosa que contém óvulos indiferenciados, de coloração bastante vistosa e com nítida persistência das pétalas, as quais podem apresentar-se fechadas ou eretas sobre o fruto maduro (RICHARDSON, 1993; JUDD *et al.*, 2002).

Quanto à coloração dos frutos das espécies de *Phoradendron*, percebe-se que apresentam uma tonalidade bastante visível, sendo assim, alvo de fácil percepção para vários animais frugívoros. Todos os frutos imaturos são verdes, porém quando atingem a maturidade podem adquirir colorações bastante variadas, desde branco/peroladas, róseas, até mesmo avermelhadas, alaranjadas e amareladas (RIZZINI, 1968; KUIJT, 2003). Segundo Arteaga *et al.*, (2006) várias espécies de aves que consomem esses frutos descartam praticamente todo o pericarpo e nutrem-se apenas da polpa, a qual contém a semente envolvida por mucilagem pegajosa. Sick (1997) considera, que os tecidos que compõem o pericarpo não têm valor nutricional nenhum para as aves, uma vez que os nutrientes são obtidos a partir da viscina.

Tais autores, por não serem pesquisadores anatomistas, não possuem embasamento ontogênico das estruturas reprodutivas deste grupo, portanto, consideram a polpa e a viscina como não pertencentes ao pericarpo. Os componentes principais desta mucilagem são polissacarídeos neutros, sendo a xilose e arabinose os mais abundantes. No entanto, quantidades significativas de aminoácido glicina, ácidos urônicos e proteínas também estão presentes (HEIDE-JORGENSEN, 2008).

Roth (1977) sugere que o ovário inferior de Viscaceae é envolvido pelo receptáculo ou hipanto de origem apendicular, onde deve se localizar a camada de viscina. Em espécies de *Phoradendron*, a camada de viscina se localiza no limite entre o receptáculo e o ovário, mas parece que o hipanto apendicular também deve contribuir com esta camada, já que os feixes vasculares que suprem o perigônio e os estames ocorrem na face interna da camada de viscina. O tecido externo a esta camada é frequentemente carnoso e parenquimático, mas elementos esclerenquimáticos podem ocorrer de forma dispersa. A autora identifica, como endocarpo, a porção de tecido localizada internamente à camada de viscina, que, provavelmente, corresponde a toda parede do ovário representada por uma membrana fina ou uma camada esclerenquimática.

A camada de viscina é um tecido altamente especializado, que ajuda a semente atravessar o trato digestório das aves e, eventualmente, na fixação em ramos de plantas hospedeiras. Essa camada se caracteriza estruturalmente por apresentar células alongadas que se dispõem em forma de paliçada, sendo originadas a partir da porção interna da parede do ovário (GEDALOVICH *et al.*, 1988). Estas células são formadas por um cilindro microfibrilar interior, enrolado e embutido parcialmente por um cilindro mucilaginoso exterior, formando uma membrana fina e translúcida, tornando-se posteriormente uma camada dura e com função protetora, que pode exibir proeminentes e ramificados feixes vasculares (GEDALOVICH-SHEDLETZK *et al.*, 1989). Segundo as observações de Venturelli (1981), conforme o desenvolvimento do fruto se processa, as células da camada de viscina sofrem um alongamento no sentido radial, o qual se acentua gradativamente, sendo principalmente evidenciado na região superior do fruto maduro.

Quanto à deiscência do pericarpo, foi relatada por Heinricher (1915) e Guttenberg (1971) a possível ocorrência de autocoria em algumas espécies do gênero *Arceuthobium* e *Viscum* (Viscaceae). Segundo este estudo, durante o desenvolvimento do pericarpo, ocorre o “inchaço” das paredes das células da camada de viscina, devido à absorção de água extraída dos tecidos parenquimatosos. Por sua vez, essa turgescência das células gera uma pressão no interior do fruto com tecidos de resistência que permeiam o pericarpo. As tensões são

produzidas e ficam mais intensas à medida que o desenvolvimento se processa. Quando o fruto atinge o grau máximo de maturação, pode ocorrer uma ruptura do pericarpo e a semente então é expelida por contração elástica dos tecidos de resistência. Para Hawksworth & Wiens (1994) e Rizzini (1995) a massa viscosa da viscina serve como um “lubrificante” para projetar a semente externamente, e a consistência pegajosa dessa camada facilita a aderência das sementes nos ramos dos hospedeiros.

2.3.2. Semente

Em relação à semente, Corner (1976) faz referência à ordem Santalales, que se origina de óvulo anátropo a mais ou menos ortótropo, podendo ser unitégmico ou atégmico e tenuinucelado. Em espécies de *Phoradendron* as sementes são ategumentadas, apresentam tamanho reduzido ou médio, envolvidas pelo endocarpo num envoltório de viscina, sendo constituídas por embrião e endosperma clorofilados (WERKER, 1997). Esta autora considera que a clorofila existente nestas sementes é devido à presença de tilacoides bem desenvolvidos, frequentemente contendo amido. Por apresentar estas particularidades, Kuijt (2003) e Coder (2008) consideram se tratar de características incomuns e bastante raras em sementes de angiospermas.

A região central da cavidade ovariana das espécies de Viscaceae é ocupada por uma excrescência mucilaginosa denominada de “mamelon” ou “papila”, sendo derivada da degeneração da placenta, no qual os óvulos ficam imersos (BARLOW, 1964). Por sua vez, os óvulos não possuem tegumentos e nucelo diferenciados, e são portadores de duas ou mais células arquesporais de origem hipodérmica, que posteriormente desenvolverão os sacos embrionários (ZAKI; KUIJT, 1995). Análises embriológicas realizadas em algumas espécies dessa família apontaram a ocorrência de três tipos de desenvolvimento de sacos embrionários, podendo ser monospóricos, bispóricos do tipo *Allium*, e tetraspóricos (MAHESHWARI *et al.*, 1957).

De acordo com os estudos morfoanatômicos realizados por Venturelli (1981), com algumas espécies de Loranthaceae (família filogeneticamente próxima a Viscaceae), o endosperma pode ser celular ou helobial, formado por três regiões visivelmente distintas: a) camada epidérmica, constituída por células pequenas, desprovidas de amido e cuja parede externa se acha revestida por cutícula; b) região mediana, constituída por várias camadas de células irregulares, armazenadoras de grande quantidade de amido e cujos núcleos se encontram em fase de desorganização; e c) região interna, formada por uma camada celular, de paredes celulares finas, adjacente ao embrião. Por sua vez, o embrião, segundo a autora,

pode ser relativamente grande ou microscópico, compondo-se do eixo hipocótilo-radicular, que é constituído pela epiderme, tecido fundamental e vascular; pela plúmula reduzida, cujas células são pequenas com citoplasma denso e núcleos relativamente grandes, não havendo vacúolos evidentes; e de dois cotilédones plano-convexos, inteiramente livres ao longo de suas faces adaxiais.

2.4. Status de conservação das espécies em estudo no estado do Paraná/Brasil

O estado do Paraná localiza-se na região sul do Brasil, constituído por cinco unidades fitogeográficas, sendo elas: Floresta Ombrófila Densa (Mata atlântica); Floresta Ombrófila Mista (Mata de araucária); Floresta Estacional Semidecidual (Floresta Estacional); Estepe (Campos) e Savana (Cerrado) (RODERJAN *et al.*, 2006). Foi relatado por Rigon (2010), que em áreas de ocorrência de fragmentos florestais, cuja vegetação é formada por Floresta Estacional Semidecidual, apresentam alto índice de propagação e diversidade de plantas hemiparasitas aéreas.

Maringá é um município localizado na região noroeste do estado, situando-se no terceiro planalto paranaense, a 23° 25' de latitude Sul e 51° 25' de longitude Oeste, cujo clima é considerado como subtropical úmido, do tipo Cfa(h), com verões chuvosos e geadas pouco frequentes. Esta cidade encontra-se sobre o domínio da vegetação Floresta Estacional Semidecidual, porém, desde meados da década de 60, devido ao crescimento da agroindústria e da conseqüente urbanização, estas áreas estão restringidas a pequenos fragmentos florestais rurais e urbanos (GARCIA, 2006).

Os dados apresentados por Rigon (2010) corroboram com os estudos observacionais realizados por Dettke & Milaneze-Gutierrez (2006) no Campus Sede da Universidade Estadual de Maringá/UEM (área aberta com vegetação esparsa) e no Parque do Ingá (fragmento florestal urbano com vegetação compacta), os quais constataram a ocorrência de seis espécies hemiparasitas aéreas de *Phoradendron*, que estiveram em fase reprodutiva no período de fevereiro a outubro/2006. As autoras consideram que a alta propagação destas espécies se deve a compatibilidade de interação entre planta parasita e planta hospedeira e a presença constante de aves disseminadoras.

Das quatorze espécies de *Phoradendron* registradas no Paraná, três constituem objeto de estudo deste trabalho, portanto, serão consideradas em caráter especial. Segundo Rigon (2010), *Phoradendron quadrangulare* e *P. piperoides* estão enquadradas na categoria “pouco preocupante”, pois estão abundantemente bem representadas em vários ambientes, visto que

tais espécies parecem beneficiar-se com alteração do seu habitat. Apresentam espigas providas de flores bisseriadas, com frutos de formato ovoide a globoso, com persistência das pétalas sobre o fruto maduro. Em contrapartida, *P. dipterum* enquadra-se na categoria “quase ameaçada”, pois se trata de uma espécie de comportamento epiparasita, fato que a torna dependente da instalação prévia de outras espécies de *Phoradendron*, sendo verificada a baixa ocorrência da mesma. Esta espécie apresenta espigas providas de flores trisseriadas e/ou multisseriadas, com frutos ovóides a quase esféricos, com persistência das pétalas sobre o fruto maduro.

3. Referências

APG II (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society** v.141, p. 399-436, 2003.

APG III (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** v.161, p.105-121, 2009.

ARTEAGA, L.L.; AGUIRRE, L.F.; MOYA, M.I. Seed rain produced by bats and birds in Forest islands in a Neotropical savanna. **Biotropica** v.38, n.6, p.718-724, 2006.

ASHWORTH, V.E.T.M. Phylogenetic Relationship in Phoradendrea (Viscaceae) Inferred from Three Regions of Nuclear Ribosomal Cistron. I. Major Lineages and Paraphyly of *Phoradendron*. **Systematic Botany** v. 25, n.2, p. 349-370, 2000.

AUKEMA, J.E. Vectors, viscin, and Viscaceae: mistletoes as parasites, mutualists, and resources. **Frontiers in Ecology and the Environment** v.1, p. 212-219, 2003.

AUKEMA, J. E.; RIO, C.M.D. Variation in mistletoe seed deposition: effects of intra- and interspecific host characteristics. **Ecography** v. 25, p. 139-144, 2002.

BARBOSA, M. A. **Loranthaceae e Viscaceae no bioma cerrado**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF. p.115, 2000.

BARLOW, B.A. Classification of the Loranthaceae and Viscaceae. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales** v.89, p. 268-272, 1964.

BARLOW, B.A. Biogeography of Loranthaceae and Viscaceae. In: Calder, M. and Bernhardt, P. (eds.). *The Biology of Mistletoes*. **Academic Press** v.2, p. 19-46, 1983.

BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes (morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas)**. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa, 1999.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L. COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. Sistemática das angiospermas do Brasil. **Imprensa Universitária** v.2, p. 377, 1984.

CALDER, D. M. Mistletoes in focus: an introduction. In: Calder, M. and Bernhardt, P. (eds.). *The Biology of Mistletoes*. **Academic Press** v.1, p.19-41, 1983.

CALVIN, C.L.; WILSON, C.A. Epiparasitism in *Phoradendron durangense* and *P. falcatum* (Viscaceae). **Aliso** v. 27, p. 1-12, 2009.

CAZZETA, E.; GALETTI, M. Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-de-passarinho *Phoradendron rubrum* (L.) Griseb. (Viscaceae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 30, p. 345-351, 2007.

COCCUCI, A.E.; VENTURELLI, M. El ovulo y el gineceo en Loranthaceae. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica** v. 21, p. 131-141, 1982.

CODER, K.D. American Mistletoe (*Phoradendron serotinum* var. *serotinum*) Infection in Trees. **WSFNR08** v. 25. p. 1-37, 2008.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

DETTKE, G.A.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Comportamento fenológico de seis espécies de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae), hemiparasitas ocorrentes na região de Maringá, Paraná. **Arquivos do Mudi** v. 10, p. 65-66, 2006.

DER, J.P.; NICKRENT, D.L. A Molecular Phylogeny of Santalaceae(Santalales). **Systematic Botany** v. 33, n. 1, p. 107-116, 2008.

ENGLER, A. Loranthaceae. In *Die Natuirlichen Pflanzenfamilien*, ed. A. Engler and K. Prantl, III, Abt. **Wilhelm Engelmann** v. 1, p. 156-198, 1889.

GARCIA, J. C. **Maringá Verde? O desafio ambiental da gestão das cidades**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, p.7, 2006.

GEDALOVICH, E.; J, KUIJT.; N.C, CARPITA. Chemical composition of viscin, an adhesive involved in dispersal of the parasite *Phoradendron californicum* (Viscaceae). **Physiological and Molecular Plant Pathology** v.32, p.61-76, 1988.

GEDALOVICH-SHEDLETZKY, E.; D.P, DELMER.; J, KUIJT. Chemical composition of viscin mucilage from three mistletoe species-a comparison. **Annals of Botany** v.64, p. 249-252, 1989.

GUTTENBERG, H.V. Bewegungsgewebe und Perzeptionsorgane. In: Linsbauer, K. (ed.) **Encyclopedia of plant anatomy**. Berlin: Börntraeger, v.6, 1971.

HAWKSWORTH, F.G.; WIENS, D. Viscaceae, mistletoe family. **Journal of Arizona-Nevada Academy of Scienci** v.27, n.2, p. 241-246, 1994.

HEIDE-JORGENSEN, H. S. **Parasitic Flowering Plants**. Koninklijke Brill NV, Leiden: The Netherlands, 2008.

HEINRICHER, E. Beitrage zur Zwerggmistel, *Arceuthobium oxycedry*, besonders desanatomischen Baues und der Mechanik ihrer explosiven Beeren (Tafel I-IV). **Sitzber. Kais. Akad.Wiss.Wien** v.124, p.161-230, 1915.

HULL, R.J.; LEONARD, O.A. Physiological aspects of parasitism in mistletoes (*Arceuthobium* and *Phoradendron*). II. The photosynthetic capacity if mistletoes. **Plant Physiology** v.39, p.1008-1017, 1964.

JOHRI, B.M.; AMBEGAOKAR, K.B.; SRIVASTAVA, P.S. **Comparative embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

JOHRI, B.M. & BHATNAGAR, S.P. Embryology and taxonomy of the Santalales. **Proceedings of the National Institute of Sciences of India** v. 26, p.199-220, 1960.

JOLY, A.B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo. Companhia Editora Nacional, 1979.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., ELIZABETH, A. K., STEVENS, P. F. **Plant systematics: A phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 1999.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Plant systematics – a phylogenetic approach**. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KUIJT, J. **The biology of parasitic flowering plants**. Berkeley: University of California Press, 1969.

KUIJT, J. Monograph of *Phoradendron* (Viscaceae). **Systematic Botany Monographs** v.66, p.1-643, 2003.

KUIJT, J.; KELLOGG, E. A. Miscellaneous mistletoe notes. **Novon** v.6, p.33-53, 1996.

MAHESHWARI, P; JOHRI, B. M. DIXIT, S. N. The floral morphology and embryology of the Loranthoideae (Loranthaceae). **Journal of the Madras University** v.27, p.121-136, 1957.

MALÉCOT, V.; NICKRENT, D.L. Molecular phylogenetic relationships of Olacaceae and related Santalales. **Systematic Botany** v. 33, p. 97-106, 2008.

MATHIASSEN, R.L.; NICKRENT, D.L.; SHAW, D.C.; WATSON, D.M. Mistletoes: Pathology, Systematics, Ecology, and Management. **Plant Disease** v. 92, n. 7, p. 988-1006, 2008.

MAY, D.S. Morphological and Physiological Differentiation of Populations in Texas. **American Journal of Botany** v.59, n.1, p. 12-22, 1972.

MÜLLER-STÖVER, D.; HERSHENHORN, J. The role of biological control in managing parasitic weeds. **Crop Protection** v.26, p. 246-254, 2007.

NICKRENT, D. L. **Parasitic Plants of the World**. in: LÓPEZ-SÁEZ, J.A.; CATALÁN, P.; SÁEZ, L. (eds), Parasitic Plants of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. Madrid. Mundi-Prensa Libros, 2002.

NICKRENT, D.L.; DUFF, R.J. **Molecular studies of parasitic plants using ribosomal RNA**. In **Advances in parasitic plant research**, eds. MORENO, M.T.; CUBERO, J.I.; BERNER, D.; JOEL, D.; MUSSELMAN, L.J.; PARKER, C. Cordoba: Junta de Andalucía, Dirección General de Investigación Agrária, 1996.

NICKRENT, D.L.; DUFF, R.J.; COLWELL, A.E.; WOLFE, A.D.; YOUNG, N.D.; STEINER, K.E.; DEPAMPHILIS, C.W. **Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants**. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; DOYLE, J.J. (eds.). Molecular systematics of plants II. DNA sequencing. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998.

NICKRENT, D.L.; DUFF, R.J.; COLWELL, A.E.; WOLFE, A.D.; YOUNG, N.D.; STEINER, K.E.; DEPAMPHILIS, C.W. **Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants**. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; DOYLE, J.J. (eds.). Molecular systematics of plants II. DNA sequencing. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2010.

NORTON, D.A.; CARPENTER, M.A. Mistletoes as parasites: host specificity and speciation. **Trends in Ecology and Evolution** v. 13, p. 101-105, 1998.

NUTTALL, T. Descriptions of plants collected by William Gambel, M.D., in the Rocky Mountains and Upper California. **Journal of the Academy of Natural Sciences** v.1, n2, p.185-186, 1848.

PRESS, M. C.; GRAVES, J. D. **Parasitic Plants**. Malcolm C. Press and Jonathan D. Graves. London. 1995.

RADI, A. Conventional and biotechnological approaches for control of parasitic weeds. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant** v. 43, p. 304–317, 2007.

RADOLMILJAC, A.M. The influence of pot host species, seedling age and supplementary nursery nutrition on *Antalum album* Linn. (Indian sandawood) plantation establishment within the Ord River Irrigation Area, Western Australia. **Forest Ecology and Management** v.102, p. 193-201, 1998.

RAVEN, P.H; EVERT, R.F; EICCHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan , 2001.

REIF, C. **Contribuição à taxonomia das famílias Eremopidaceae, Loranthaceae e Viscaceae no Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: UFRJ. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, p.112, 2004.

REIF, C.; ANDREATA, R.H.P. Sinopse das “ervas-de-passarinho” do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas, Botânica** v. 57, p. 255, 2006.

RICHARDSO, I.B.K. Loranthaceae. In: Heywood, V. H. (ed.). **Flowering plants of the world**. Oxford: Oxford University Press, 1993

RIGON, J. **O gênero *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) no estado do Paraná, Brasil**. Curitiba: UFPR. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós graduação em Botânica, Universidade Federal do Parana, p.98, 2010.

RIZZINI, C.T. Lorantáceas catarinenses. In: Reitz, R.(ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1968.

RIZZINI, C.T. Los generos venezolanos y brasileiros de las Lorantáceas. **Rodriguésia** v.46, p. 27-161, 1978.

RIZZINI, C.T. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Loranthaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** v. 14, p. 207-221,1995.

RODERJAN, C.V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y.S.; HATSCHBACH, G.G. As Unidades Fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência e Ambiente** v.4, n. 24, p. 75-92, 2006.

ROTH, I. Fruits of angiosperms. In: Linsbauer, K. (ed.) **Encyclopedia of plant anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1977.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

STANNARD, B.L. Loranthaceae. In: STANNARD, B.L. (ed.). Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. **Royal Botanic Gardens** v.1, p. 407-410, 1995.

STEWART, G.R.; PRESS, M.C. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular** v.41, p.127-151, 1990.

TIEGHEM, P. V. Sur le groupement des especes en genres dans les Ginalloees, Bifariees, Phoradendrees, et Viscées, quatre tribus de la famille des Loranthacees. **Bulletin de la Société Botanique de France** v. 43, p. 161-194, 1896.

TRELEASE, W. **The genus Phoradendron**. Urbana: University of Illinois Pres, 1916.

VENTURELLI, M. Estudos sobre *Struthanthus vulgaris* Mart.: anatomia do fruto e semente e aspectos de germinação, crescimento e desenvolvimento. **Revista Brasileira de Botânica** v. 4, p. 131-147, 1981.

VIDAL-RUSSELL, R.; NICKRENT, D. L. The first mistletoes: Origins of aerial parasitism in Santalales. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 47, p. 523-537, 2008.

WATSON, D. M. Mistletoe - unique constituent of canopies worldwide. *In* Forest canopies. 2nd ed. (fully revised). *Edited by* M. Loman and B. Rinker. **Academic Press** v.3, p. 212– 223, 2004.

WERKER, E. **Seed anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1997.

WESTWOOD, J.H.; YODER, J.I.; TIMKO, M.P.; PAMPHILIS, C.W. The evolution of parasitism in plants. **Trends in Plant Science** v.15, p.227-235, 2010.

WIENS, D.; BARLOW, B. A. The Cytogeography and Relationships of the Viscaceous and Eremolepidaceous Mistletoes. **Taxon** v. 20, n. 2/3, p. 313-332, 1971.

ZAKI, M.; KUIJT.J. Ultrastructural studies on the embryo sac of *Viscum minimum*: II. Megagametogenesis. **Journal of Botany** v.72, p.1613-1628, 1995.

ZOMLEFER, W. B. **Guide to flowering plant families**. London. The University of North Carolina Press, 1994.

CAPÍTULO 2

Desenvolvimento estrutural do pericarpo e da semente de três espécies hemiparasitas aéreas de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) em ambiente florestal semidecidual

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para a publicação científica no periódico *Acta Botanica Brasilica*.

Desenvolvimento estrutural do pericarpo e da semente de espécies hemiparasitas aéreas de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) em ambiente florestal semidecidual

Anderson Polli^{1,3}, Luiz Antonio de Souza²

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá/UEM

² Universidade Estadual de Maringá/UEM, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia.

³ Endereço para correspondência: anderson_pol25@hotmail.com

Desenvolvimento estrutural do pericarpo e da semente de espécies hemiparasitas aéreas de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) em ambiente florestal semidecidual

RESUMO

Phoradendron Nutt. (Viscaceae) compreende espécies comumente designadas como “erva-de-passarinho”, sendo muito frequente em regiões tropicais e subtropicais e apresenta alta capacidade de propagação sexuada em Floresta Estacional Semidecidual. Neste trabalho foram estudados os frutos (pericarpo e semente) de *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach, *P. dipterum* (Kunth) Trel e *P. piperoides* (Kunth) Trel., com o objetivo de contribuir com a caracterização das espécies e definição do tipo de fruto. O material botânico (flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento) foi coletado em Maringá (Brasil) e analisado em microscopia de luz e eletrônica de varredura, segundo técnicas usuais em anatomia vegetal. Os frutos provêm de ovários ínferos que se caracterizam por apresentar tecido precursor da camada de viscina no mesofilo. O fruto maduro apresenta exocarpo epidérmico, mesocarpo parenquimático com regiões comprimidas, portadora de idioblastos cristalíferos, esclereídes e feixes vasculares dispostos em dois anéis, camada de viscina e endocarpo colapsado. A semente é ategumentada, clorofilada, formada por endosperma rico em reserva amilácea e embrião com eixo hipocótilo radicular curto, plúmula não evidente e cotilédones reduzidos. Os frutos das três espécies enquadrados no tipo pomáceo, assim como as sementes, são estruturalmente muito semelhantes com caracteres diferenciáveis presentes na camada de viscina e no endosperma.

Palavras-chave: camada de viscina; erva-de-passarinho; fruto; ontogênese.

Structural development of the pericarp and seed species hemiparasites flights *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) in semideciduous forest environment

ABSTRACT

Phoradendron Nutt. (Viscaceae) consists of species commonly referred as “birdie herb” being quite common in tropical and subtropical regions and presents a high sexual propagation capacity in Semideciduous Seasonal Forest. In this current research, studied the fruit (pericarp and seed) of *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach, *P. dipterum* (Kunth) Trel e *P. piperoides* (Kunth) Trel., with the aim to contribute with the species characterization and definition of the fruit type. The botanical material (flowers and fruits in different stages of development) was collected in Maringá (Brazil) and analyzed in light and scanning electron microscopy, following usual techniques in plant anatomy. The fruits are derived from infer ovaries, which are characterized by presenting precursor tissue in the mesophyll viscina layer. The ripe fruit presents epidermal exocarp, parenchymatous mesocarp with compressed regions, which owns crystal idioblasts, sclereids and vascular bundles arranged in two rings, viscina layer and collapsed endocarp. The seed has no integument and is chlorophyllated, consisting of rich endosperm in starch reserve, embryo with slightly short hypocotyl root axis, not evident plumule and reduced cotyledons. The fruits considered as pomaceous type and the seeds of the three species are structurally very similar, demonstrating different characters only related to the viscina layer and the endosperm.

Keywords: viscina layer; birdie herb; fruit; ontogeny.

Introdução

Phoradendron Nutt. é considerado gênero de Viscaceae, com alta representatividade em áreas tropicais e subtropicais do continente americano, sendo comumente designado como “erva-de-passarinho”, pois seus frutos são consumidos e disseminados por aves frugívoras (Kuijt 2003). Apresenta conflitos de cunho taxonômico e também na classificação hierárquica de suas espécies (Press & Graves 1995), registrando-se na literatura clássica a inclusão deste gênero em outras duas famílias distintas (Loranthaceae e Santalaceae), porém análises moleculares e embriológicas têm confirmado sua inclusão em Viscaceae (Nickrent *et al.* 2010). Numa tentativa de ordenar infragenericamente *Phoradendron*, Kuijt (2003) ressaltou a importância da realização de estudos morfológicos para a caracterização das espécies e as agrupou em alianças, com base na morfologia da inflorescência.

No Paraná (Brasil) o gênero é representado por 14 espécies (Rigon 2010), das quais seis já foram encontradas em Maringá (Dettke & Milaneze-Gutierrez 2006), região agrícola com alguns fragmentos da Floresta Estacional Semidecidual (Garcia 2006). De acordo ainda com Dettke & Milaneze-Gutierrez (2006) essas seis espécies têm alta propagação neste tipo de ambiente, devido à compatibilidade de interação entre planta parasita e planta hospedeira, e à presença constante de aves disseminadoras.

Há registro escasso de estudos anatômicos ontogênicos de frutos e sementes em espécies de *Phoradendron*, podendo ser mencionado o trabalho de York (1909); Calvin (1966); Roth (1977); Kuijt (2003) e de Sánchez *et al.* (2011). Na literatura há outras investigações estruturais desses órgãos em famílias com gêneros filogeneticamente próximas à Viscaceae, como *Struthanthus* e *Tripodanthus* – pertencentes à Loranthaceae (Venturelli 1981; Venturelli 1983).

Os frutos de Viscaceae são estruturalmente complexos, tanto pela origem ínfera do ovário, quanto pela formação da camada de viscina. Por sua vez, essa camada é originada a partir da porção interna da parede ovariana, caracterizando-se por apresentar células alongadas que se dispõem em paliçada, formando um tecido altamente especializado, que produz uma substância mucilaginosa, que auxilia a semente na passagem pelo trato digestório das aves e na aderência das mesmas em ramos de plantas hospedeiras (Gedalovich *et al.* 1988). Segundo Roth (1977), em espécies de *Phoradendron*, a camada de viscina se localiza no limite entre o receptáculo e o ovário, mas parece que o hipanto apendicular também deve contribuir com esta camada, já que os feixes vasculares que suprem o perigônio e os estames ocorrem na face interna da camada de viscina.

Para elaboração deste estudo, foram selecionadas três espécies de *Phoradendron* - *P. quadrangulare*, *P. dipterum* e *P. piperoides*, pertencentes a alianças diferentes, conforme Kuijt (2003), para estudo ontogênico dos frutos e das sementes. Neste trabalho objetivou-se responder a duas indagações relevantes: a) Os caracteres morfoanatômicos dos frutos (pericarpo e semente) são significativos para caracterização das alianças/espécies? e b) Os frutos das espécies devem ser considerados como baga, como indica a literatura?

Material e métodos

A coleta do material botânico (botões florais, frutos e sementes em diferentes fases de desenvolvimento) de vários espécimes de *P. quadrangulare* (Kunth) Grisebach, *P. dipterum* (Kunth) Trel e de *P. piperoides* (Kunth) Trel., foram coletados no município de Maringá/PR, mais especificamente no Campus Sede da Universidade Estadual de Maringá, sob coordenadas: *P. piperoides*, altitude 513 m, latitude 23°24'17.6''S e longitude 51°56'38,3'' W; *P. quadrangulare*, altitude 508 m, latitude 23°24'9,3'' S e longitude 51°56'25,7'' W; *P. dipterum*, altitude 541 m, latitude 23°24'26,0'' S e longitude 51°56'19,0'' W. Após a coleta, o material foi fixado em Glutaraldeído e, posteriormente, desidratado em série de concentrações crescentes de álcool etílico (Johansen 1940). Também foram montadas exsicatas com ramos contendo flores e frutos das espécies já referidas e depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM), sob números de registro: *P. piperoides* 22.574, *P. quadrangulare* 22.575 e *P. dipterum* 23.381.

O estudo anatômico foi realizado através de lâminas permanentes confeccionadas, a partir de peças botânicas incluídas em historresina Leica® e seccionado em diversos planos em micrótomo de rotação. As seções, assim obtidas, foram coradas com azul de Toluidina em tampão fosfato com pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964) e montado em resina sintética (Histolan). A captura de imagens para análise das estruturas foi realizada com auxílio de câmera digital acoplada ao microscópio Leica ICC50. As escalas referentes às ilustrações foram obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

A análise da superfície das sementes e dos frutos das três espécies foi feita em microscópio eletrônico de varredura (MEV) em amostras também fixadas em Glutaraldeído. Estas amostras foram submetidas ao secador de ponto crítico BaltecCPD 030, utilizando-se de CO₂ (Horridge & Tamm 1969). Posteriormente, as amostras foram montadas em suporte de alumínio e submetidas à metalização com ouro, em aparelho Shimadzu IC-50. Essa análise foi feita em microscópio modelo Shimadzu SS 550, com as escalas das micrografias eletrônicas diretamente impressas nas mesmas.

Testes histoquímicos foram realizados para a detecção de substâncias presentes no pericarpo e sementes das espécies em estudo, em seções obtidas a partir de cortes a mão livre, sendo usados Sudan IV para identificação de substâncias lipídicas (Rawlins & Takahashi 1952; Ruzin 1999); Lugol para amido e Floroglucina em meio ácido para lignina (Berlyn & Miksche 1976); Vermelho de rutênio para substâncias pécticas (Johansen 1940; Jensen 1962); Cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940) e Ácido sulfúrico diluído em solução aquosa para detecção de oxalato de cálcio (Sass 1951).

Resultados

Fruto em desenvolvimento

Os frutos das espécies em estudo originam-se de flores diminutas, dispostas em espigas e inseridas em fôveas (Fig. 1A-C), composta por três pétalas pequenas, apendunculadas, monoclamídeas, actinomorfas e epíginas (Fig. 1B-D-E). As flores diferem em cor e na abertura do perigônio que expõe o estigma, sendo esverdeadas e com abertura reduzida triangular em *P.quadrangulare* e *P.dipterum* (Fig. 1E-F) e verde-alaranjadas com abertura ampla em *P.piperoides* (Fig. 1G-H).

A fase inicial de desenvolvimento do fruto é de difícil distinção, pois os estágios florais de pós-antese e frutos jovens são morfologicamente parecidos, principalmente porque há persistência das pétalas. Em *P.dipterum* o fruto tem formato inicial ovoide-globoso, de coloração esverdeada, e durante o desenvolvimento adquire leve pigmentação rósea na porção superior (Fig. 2A) tornando-se, na fase madura, fruto de formato ovoide-alongado e coloração esbranquiçada com forte tonalidade rósea (Fig. 2B-C). Em *P.quadrangulare*, o fruto, inicialmente ovoide e esverdeado, torna-se, na maturidade, globoso de cor fortemente alaranjada (Fig. 2D). O fruto de *P.piperoides* mantém o formato ovoide-alongado durante todo o desenvolvimento, alterando apenas a coloração, de esverdeada com leve aspecto amarelo-alaranjado (Fig. 2E) para fortemente amarelada, com pigmentação alaranjada na região superior (Fig. 2F-G).

O ovário unicarpelar e unilocular apresenta parede formada por epiderme externa unisseriada, cuticularizada, com camada cuticular espessa com flanges; suas células têm contorno quadrangular ou retangular (Fig. 3A) e são levemente papilosas na metade inferior e papilosas na metade superior (Fig. 3B). O mesofilo ovariano é diferenciado em três zonas histológicas distintas: a) região externa plurisseriada, constituída por tecido parenquimático, formado por células poliédricas, nucleadas, vacuolizadas, pouco alongadas tangencialmente,

de paredes finas e espaços intercelulares inconspícuos; neste parênquima ocorrem idioblastos com drusas e esclereídes de diferentes formatos com paredes espessas e pontoadas (Fig. 3A-C); b) região média consistindo de células menores, alongadas tangencialmente, núcleos relativamente grandes, com evidências de divisões celulares em diferentes planos; e c) região interna formada por células parenquimáticas, de tamanho reduzido, de paredes delgadas, núcleos grandes, com células cristalíferas e células em divisão principalmente periclinais (Fig. 3D). A epiderme interna do ovário das três espécies é de difícil distinção, pois confunde-se com as células que compõem o mesofilo interno; as células epidérmicas têm contorno quadrangular, retangular ou levemente prismático, de paredes delgadas, podendo sofrer divisões periclinais (Fig. 3E). A vascularização ovariana é feita por feixes colaterais ou procambiais que se localizam na região externa do mesofilo e na interface entre o mesofilo médio e interno (Fig. 3F). Observou-se também que o tecido transmissor, que mantém continuidade com o tecido estigmático, interrompe as camadas de tecidos delineadas no ovário (Fig. 3G).

A estrutura do ovário é relativamente uniforme para as três espécies, embora ocorram diferenças estruturalmente pouco significativas. Somente em *P. piperoides* foram observados derivados fenólicos na região média do mesofilo, principalmente no ápice do ovário (Fig. 3H). Na flor de *P. dipterum* observa-se uma pequena projeção fundida à parede superior do ovário, internamente ao perigônio, que se caracteriza por apresentar epiderme papilosa e duas ou três camadas de células subepidérmicas com notável conteúdo citoplasmático (Fig. 3G).

Nos frutos em desenvolvimento, o exocarpo, derivado da epiderme externa ovariana, sofre poucas alterações, como aumento da espessura da camada cuticular e leve compressão celular pelo crescimento dos tecidos internos (Fig. 4A). As mudanças mais significativas ocorrem na diferenciação do mesofilo em mesocarpo, principalmente na região mediana. Onde intensificam-se as divisões e crescimento celulares, subdividindo-a em duas regiões: uma de natureza parenquimática, com a denominação de mesocarpo médio, e a outra que se diferencia na camada de viscina. Esta camada é plurisseriada, volumosa, constituída por células alongadas tangencialmente, relativamente estreitas, nucleadas, vacuolizadas, de paredes celulares inicialmente finas e sinuosas (Fig. 4B-C), podendo apresentar drusas e cristais filamentosos. Durante o processo de diferenciação do fruto, as paredes das células da camada de viscina podem sofrer espessamento considerável de natureza péctica (Fig. 4D). Outras modificações menos expressivas também podem ser detectadas, como a diferenciação de mais esclereídes no mesocarpo externo, em geral em grupos celulares (Fig. 4E), e o aumento gradual da compressão das células mesocárpicas, essencialmente do mesocarpo

interno. Esta compressão celular também se observa na epiderme interna do ovário, agora chamada endocarpo (Fig. 4F). Durante o desenvolvimento dos frutos de *P.dipterum* e *P.piperoides* formam-se, na periferia da camada de viscina, cordões de células alongadas, de lume reduzido e de paredes finas (Fig.4 G-H), que se diferenciam no fruto maduro em fibras e traqueídes.

Nas três espécies analisadas, os frutos maduros apresentam exocarpo unisseriado, glabro, cuticularizado com camada cuticular espessa; suas células apresentam paredes com flanges evidentes e são papilosas (Fig. 5A) exceto no terço inferior do fruto. Em análise de varredura, verificou-se que as células epidérmicas de *P.quadrangulare* e *P. dipterum* apresentam contorno poliédrico, são convexas, recoberta por cutícula verrugosa com região central lisa (Fig. 5B-C). Em *P.piperoides*, estas células tem contorno sinuoso, são planas e apresenta cutícula estriada (Fig. 5D).

O mesocarpo possui quatro regiões de tecidos, sendo três de natureza parenquimática e a camada de viscina. O endocarpo apresenta-se completamente colapsado (Fig. 5E). A vascularização mantém-se como no ovário, ou seja, é representada por feixes vasculares colaterais, dispostos em dois anéis, um na interface entre as regiões mesocárpicas externa e média, e outro no mesocarpo interno.

O mesocarpo externo apresenta células de paredes relativamente delgadas, de formato variável, levemente comprimidas. Nele ocorrem idioblastos com drusas de oxalato de cálcio e esclereídes isoladas ou agrupadas, nucleadas, de paredes espessas lignificadas e pontoadas. Na região mediana e na interna as células estão mais ou menos comprimidas, sendo o colapso celular mais pronunciado na região interna (Fig. 5F-G).

A camada de viscina do fruto, região mais ampla do mesocarpo, é plurisseriada, com células em geral alongadas e túrgidas, podendo ocorrer idioblastos cristalíferos. As paredes celulares são relativamente delgadas em *P.dipterum* e *P.quadrangulare* (Fig. 5H) e espessas em *P.piperoides* (Fig. 4D). Este tecido possui espaços intercelulares, eventualmente amplos, e substâncias pécticas nas paredes celulares. Em seção transversal do fruto, a camada de viscina mostra-se contínua em *P.dipterum* (Fig. 5I) e em *P.quadrangulare* (Fig. 5E) e é interrompida por parênquima mesocárpico em *P.piperoides* (Fig. 5J). Outra variação significativa foi observada na camada de viscina das três espécies estudadas, referente à diferenciação ou não de cordão de células alongadas na periferia da mesma. Este cordão, ausente em *P. quadrangulare*, é constituído, nas outras duas espécies, por traqueídes, com espessamentos secundários parietais helicoidais em *P.dipterum* (Fig. 5K), e fibras com parede celular espessa não lignificada em *P. piperoides* (Fig. 5L).

Semente em desenvolvimento

A semente origina-se do único óvulo reduzido, ategumentado, que apresenta nucelo relativamente fino (Fig. 6A), limitando o saco embrionário, que apresenta amido. Durante o desenvolvimento da semente, o nucelo é destruído e formam-se o endosperma e embrião. Nas sementes jovens, o endosperma, que envolve o embrião em formação, se diferencia em epiderme e tecido parenquimático rico em reserva amilácea (Fig. 6B-C). Na semente de *P. dipterum*, o endosperma globular forma projeção composta de células enfileiradas, alongadas, pouco vacuolizadas, de núcleos grandes e de paredes finas, que se acha em contato com os tecidos basais do fruto (Fig. 6D).

A semente madura é clorofilada, ategumentada, encontra-se envolvida por substância mucilagínosa, de consistência pegajosa (Fig. 6E-G), produzida pela camada de viscina. Apresenta endosperma multisseriado, formado por tecido epidérmico e parenquimático. Por sua vez, a epiderme, mostra-se unisseriada, finamente cuticularizada, provida de células com paredes finas e alongadas radialmente (Fig. 7B). Estas células apresentam contorno variável, superfície lisa e plana (Fig. 7A). No polo radicular, as células epidérmicas são levemente papilosas (Fig. 7C). O parênquima endosperático é constituído por células poliédricas, de contorno variável, com cloroplastídios e notável conteúdo amiláceo; nele podem ocorrer idioblastos com drusas de oxalato de cálcio (Fig. 7D).

O embrião é reto, com eixo hipocótilo-radicular relativamente curto, plúmula não evidente e dois cotilédones reduzidos (Fig. 7E). O embrião não é completamente envolvido pelo endosperma, permanecendo livre o polo radicular (Fig. 7F). Diferentemente das outras duas espécies, as margens cotiledonares de *P. dipterum* sofrem adesão das células epidérmicas (Fig. 7G).

Discussão

Os caracteres florais de Viscaceae registrados por Judd *et al.* (2009) apontam estruturas florais reduzidas, inodoras, com flores inconspícuas, unissexuadas, inseridas parcialmente ou totalmente em fôveas, sendo, portanto, aspectos que podem dificultar a polinização das mesmas. No entanto, as espécies de *Phoradendron* estudadas são monoicas, providas de flores estaminadas e pistiladas numa mesma espiga, conforme salientado por Rigon (2010), facilitando, assim, a atuação de agentes polinizadores comuns na família, como formigas, vespas, vento ou água. Viscaceae apresentam ciclo reprodutivo anual, ou seja, florescem e frutificam uma vez ao ano (Polhill & Wiens 1998); portanto, parece haver uma sincronia temporal na atuação dos agentes polinizadores e dispersores com o ritmo

reprodutivo destas plantas (Reif & Andreatta 2006). Observações preliminares, realizadas em indivíduos de *Phoradendron* nos ambientes de coleta mostraram que, durante os períodos de antese e maturação dos frutos, há respectivamente presença abundante de potenciais polinizadores animais (principalmente formigas) percorrendo os ramos férteis destas espécies e potenciais dispersores (aves) alimentando-se dos frutos maduros.

É comumente admitido que o ovário inferior tenha natureza apendicular ou receptacular (axial), embora a primeira seja mais frequente (Roth 1977). Esta autora faz referência à natureza mista do ovário ínfero/fruto de *Phoradendron*, considerando que os feixes localizados internamente à camada de viscina vascularizam o perigônio. De fato, as três espécies estudadas de *Phoradendron* apresentam evidências de natureza mista do ovário ínfero. Uma evidência é a presença de feixes vasculares invertidos no anel interno da parede do fruto, que foi considerada por Roth (1977) como indício de origem axial do ovário ínfero para outras espécies. Por outro lado, a semelhança estrutural da parte superior da parede do ovário/fruto com o perigônio, como epiderme papilosa, associada à vascularização interna, já referida por Roth (1977), indica sua origem também apendicular.

O ovário de angiospermas, de modo geral, não é muito diferenciada antes e durante a antese, constando principalmente de parênquima, tecido vascular e epiderme cuticularizada (Esau 1959). Roth (1977) considera que o carpelo maduro antes da fertilização consiste principalmente de “parênquima indiferenciado”, isto é, de células de paredes finas com protoplasta vivo que mantém a capacidade de se dividir e crescer; mas também meristemas ativos podem ser incluídos no ovário maduro. No caso das espécies de *Phoradendron*, a parede do ovário já apresenta certa diferenciação, que a distingue do padrão básico referido pelas autoras. Nestas espécies há regiões histológicas bem definidas e já se observam idioblastos cristalíferos e esclerenquimáticos.

A camada de viscina é o tecido do pericarpo que tem grande importância ecológica nas plantas hemiparasitas, especialmente na dispersão das sementes. Heide-Jorgensen (2008) relata que esta camada produz uma substância mucilaginosa e pegajosa, marcada pela presença abundante de polissacarídeos neutros (xilose e arabinose) e quantidades significativas de aminoácido glicina, ácidos urônicos e proteínas. Por sua vez, essa mucilagem auxilia a semente na passagem pelo trato digestório das aves e na aderência em ramos de plantas hospedeiras.

Roth (1977) sugere que a camada de viscina, ocorrente em *Phoradendron*, se forme na linha divisória entre a porção receptacular e a parede do ovário, demarcada pela presença do anel mais interno de feixes vasculares. A ontogênese do pericarpo das três espécies de

Phoradendron mostrou que a camada de viscina se forma na região média do mesofilo ovariano, mediante instalação de tecido meristemático próprio que é mais evidente no fruto em desenvolvimento.

Na literatura não há registro da presença de cordões especiais que ocorrem na periferia da camada de viscina de *P. dipterum* e *P. piperoides*, que consistem de células traqueoidais na primeira e fibras gelatinosas na segunda. É provável que estes cordões estejam relacionados à manutenção e/ou absorção da água da camada de viscina e, por consequência, do embrião, considerando-se as características estruturais e fisiológicas de ambos os tipos de células. As células traqueoidais poderiam funcionar como os idioblastos traqueoidais que ocorrem em folhas xeromorfas e as fibras gelatinosas, não lignificadas e ricas em celulose, que têm capacidade de absorver água (Mauseth 1988).

Segundo Roth (1977); Richardso (1993); Spjut (1994); Barroso *et al.* (1999) e Judd *et al.* (2002), os frutos formados em Viscaceae são bagas carnosas, provenientes de ovário ínfero. Entretanto, a origem ínfera do ovário revela que a parede do fruto possui tecidos não carpelares, de origem axial e apendicular, o que os diferencia de outras bagas que têm origem de ovário súpero. Entretanto, Souza (2006), baseado em Hertel (1959) propõe que os frutos originados de ovário ínfero devem ser enquadrados como frutos pomáceos. No caso dos frutos das espécies de *Phoradendron* eles devem ser considerados como um tipo especial de pomáceo.

Durante o desenvolvimento do endosperma de *P. dipterum* foi observada projeção multicelular deste tecido que mantém contato com a base do fruto. A presença de núcleos relativamente grandes e o contato com os tecidos pericárpicos sugerem função haustorial do endosperma. Esta suposição se baseia em Vijayaraghavan & Prabhakar (1984) que registraram haustório no endosperma da Viscácea *Arceuthobium minutissimum* Hool f.

O endosperma diferenciado parece ter mais de uma função nas sementes estudadas de *Phoradendron*. Ele deve exercer a função de proteção do embrião, considerando que a semente é ategumentada. Outra função do endosperma deve estar relacionada à nutrição do embrião no processo germinativo, em razão da presença de clorofila e de reserva amilácea em suas células. Em adição, endosperma clorofilado e conteúdo amiláceo são registrados em outras famílias de Santalales (Corner 1976) e em outros gêneros de Viscaceae (Kuijt 1969).

Os embriões de *Phoradendron* investigados, que têm cotilédones reduzidos, uma característica que parece ser comum em Viscaceae (Kuijt 1969), apresenta no polo radicular células epidérmicas papilosas. Werker (1997) sugere que estas projeções epidérmicas

capacitariam à semente, desprovida de tegumento, a se fixar melhor sobre o hospedeiro durante a germinação.

Os embriões das três espécies de *Phoradendron* são clorofilados, observação feita para outras espécies de Loranthaceae e Viscaceae (Kuijt 1969; Venturelli 1983). Werker (1997) questiona se a presença de clorofila no embrião é apenas o resultado de desenvolvimento precoce ou se ela executa a função fotossintética na semente, antes de sua dessecação. A autora complementa considerando a primeira possibilidade mais plausível, levando em conta que muitas sementes perdem a clorofila adquirindo coloração amarelada durante a dessecação.

A análise estrutural ontogênica dos frutos das três espécies de *Phoradendron* mostrou muita semelhança entre elas. Entretanto, alguns caracteres podem ser úteis para caracterização das espécies, mas não para as respectivas alianças, principalmente pelo número reduzido de espécies investigadas. Caracteres que são diferenciáveis entre os frutos e sementes das espécies são: a) presença ou ausência de cordões especiais de células traqueoidais ou de fibras gelatinosas na camada de viscina; b) Camada de viscina contínua ou interrompida; e c) Desenvolvimento provável de haustório no endosperma.

Os frutos das espécies de *Phoradendron* não devem ser considerados como bagas, em função da origem (ovário ínfero), que tem como consequência a diferenciação de tecidos não carpelares na parede do fruto. Como já referido, os frutos das espécies estudadas devem ser enquadrados como subtipo de frutos pomáceos, que se originam de ovário ínfero.

Agradecimentos

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil); a F.A (Fundação Araucária) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) pelo apoio financeiro à execução do presente trabalho (Bolsa de mestrado ao primeiro autor e bolsa de produtividade em pesquisa ao segundo autor).

Referências bibliográficas

- Barroso, G.M.; Morim, M.P.; Peixoto, A. L.; Ichaso, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes (morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas)**. Viçosa. Editora Universidade Federal de Viçosa.
- Berlyn, G.P & Miksche, J.P. 1976. **Botanical microtechnique and citochemistry**. Ames (Iowa). The Iowa State University.
- Calvin, C.L. 1966. Anatomy of mistletoe (*Phoradendron flavescens*) seedlings grown in culture. **Botanical Gazette** 127 (4): 171-183.
- Corner, E.J.H. 1976. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge. Cambridge University Press.
- Dettke, G.A.; Milaneze-Gutierrez, M.A. 2006. Comportamento fenológico de seis espécies de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae), hemiparasitas ocorrentes na região de Maringá, Paraná. **Arquivos do Mudi** 10: 65-66.
- Esau, K. 1959. **Anatomia vegetal**. Tradução de José Pons Rosell. Barcelona. Ediciones Omega.
- Gedalovich, E.; J, Kuijt.; Carpita, N.C. 1988. Chemical composition of viscin, an adhesive involved in dispersal of the parasite *Phoradendron californicum* (Viscaceae). **Physiological and Molecular Plant Pathology** 32 (2): 61-76.
- Gomes-Sánchez, M.; Sánchez-Fuentes, L.J.; Salazar-Olivo, L.J. 2011. Anatomia de espécies mexicanas de los gêneros *Phoradendron* y *Psittacanthus*, endêmicos del Nuevo Mundo. **Revista Mexicana de Biodiversidad** 82 (4): 1203-1218.
- Heide-Jorgensen, H. S. 2008. **Parasitic Flowering Plants**. Leiden. The Netherlands.
- Hertel, R.J.G. 1959. Contribuições para a fitologia teórica II. Algumas concepções na carpologia. **Humanitas** 4 (1): 1-43.
- Jensen, W.A. 1962. **Botanical histochemistry (principles and practice)**. San Francisco. W.H. Freeman and Company.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York. McGraw-Hill.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. 2002. **Plant systematics – a phylogenetic approach**. Sunderland. Sinauer Associates.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.; Donoghue, M. J. 2009. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre. Artmed.
- Kuijt, J. 1969. **The biology of parasitic flowering plants**. Berkeley. University of California Press.

Kuijt, J. 2003. Monograph of *Phoradendron* (Viscaceae). **Systematic Botany Monographs** 66 (2): 1-643.

Mauseth, J.D. 1988. **Plant anatomy**. Menlo Park-Califórnia. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.

Nickrent, D.L.; Duff, R.J.; Colwell, A.E.; Wolfe, A.D.; Young, N.D.; Steiner, K.E.; Depamphilis, C.W. 2010. Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. In: Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Doyle, J.J. (eds.). **Molecular systematics of plants II. DNA sequencing**. Boston. Kluwer Academic Publishers.

O'Brien, T.P.; Feder, N.; Mccully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59 (2): 368-373.

Polhill, R. & Wiens, D. 1998. **Mistletoes of Africa**. Kew. Royal Botanical Gardens.

Press, M. C.; Graves, J. D. 1995. **Parasitic Plants**. London. Malcolm C. Press and Jonathan D. Graves.

Rawlins, T.E. & Takahashi, W.N. 1952. **Technics of plant histochemistry and virology**. Millbrae. The National Press.

Reif, C. & Andreato, R.H.P. 2006. Sinopse das “ervas-de-passarinho” do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas, Botânica** 57 (2): 255-257.

Richardso, I.B.K. 1993. Loranthaceae. In: Heywood, V. H. (ed.). **Flowering plants of the world**. Oxford. Oxford University Press.

Rigon, J. **O gênero *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae) no estado do Paraná, Brasil**. 2010. Curitiba: UFPR. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná.

Roth, I. 1977. Fruits of angiosperms. In: Linsbauer, K. (ed.) **Encyclopedia of plant anatomy**. Berlin. Gebrüder Borntraeger.

Ruzin, S.E. 1999. **Plant microtechnique and microscopy**. New York. Oxford University Press.

Sass, J.E. 1951. **Botanical microtechnique**. Iowa. Iowa State College Press.

Souza, L.A. (org.). 2006. **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa. Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Spujt, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden** 70 (1): 1-182.

Venturelli, M. 1981. Estudos sobre *Struthanthus vulgaris* Mart.: anatomia do fruto e semente e aspectos de germinação, crescimento e desenvolvimento. **Revista Brasileira de Botânica** 4 (3): 131-147.

Venturelli, M. 1983. Estudos embriológicos em Loranthaceae. Gênero *Tripodanthus* (Eichl.) Tiegh. **Kurtziana** **16** (2): 71-90.

Vijayaraghavan, M.R. & Prabhakar, K. 1984. The endosperm. In: Johri, B.M. **Embryology of angiosperms**. Berlin. Springer.

Werker, E. 1997. **Seed anatomy**. Berlin. Gebrüder Borntraeger.

York, H.H. 1909. The anatomy and some of the biological aspects of the "American mistletoe" *Phoradendron flavescens* (Pursh) Nutt. **Sciences Series** **13** (1): 1-58.



Figura 1. Estágios florais de *Phoradendron quadrangulare* (A,E), *Phoradendron dipterum* (B,F) *Phoradendron piperoides* (C,D,G,H). Microscopia estereoscópica. Escala = 1 mm.

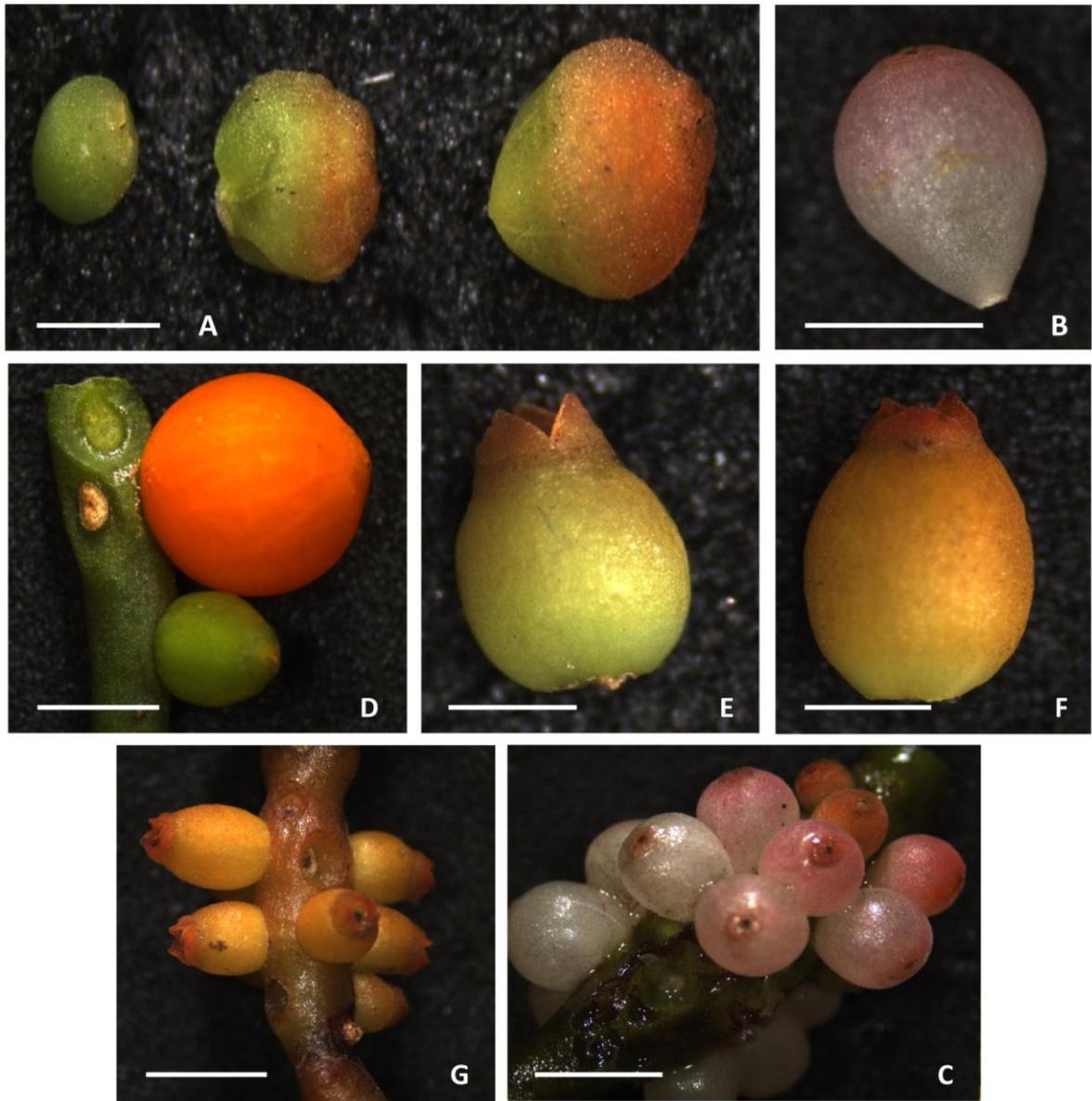


Figura 2. Estágios de desenvolvimento dos frutos de *Phoradendron quadrangulare* (D), *Phoradendron dipterum* (A,B,C), *Phoradendron piperoides* (E,F,G). Microscopia estereoscópica. **Escala** = 1 mm.

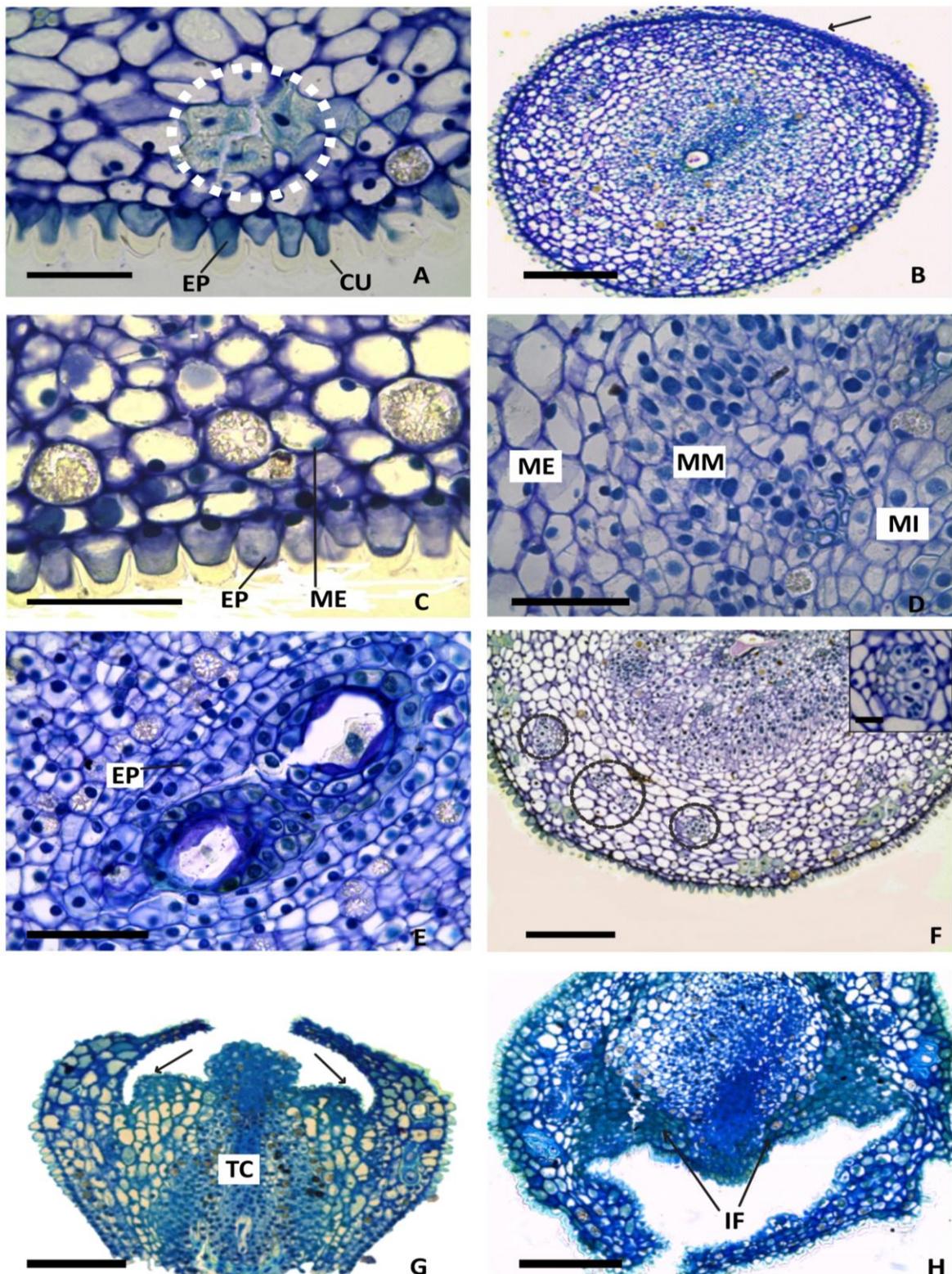


Figura 3. Estrutura do ovário em desenvolvimento de *Phoradendron quadrangulare* (A,B,C,D,E,F), *Phoradendron dipterum* (G), *Phoradendron piperoides* (H). Fig. A,C,D,E,F: Parede ovariana em desenvolvimento. Fig. B: Visão geral do ovário, mostrando em detalhe (seta) epiderme pouco papilosa na extremidade inferior. Fig. G: Estrutura floral pós-antese em seção transversal, em detalhe (setas) projeção celular fundida a parede superior do ovário. Fig. H: Estrutura floral pós-antese em seção longitudinal. (circunferência tracejada(branco)=esclereides; circunferência tracejada(preto)=feixes vasculares; cu=cutícula; ep=epiderme; if=idioblasto fenólico; me=mesofilo externo; mi=mesofilo interno; mm=mesofilo médio; tc=tecido transmissor. Escalas: 50µm (B,F,G,H), 100 µm (A,C,D,E).

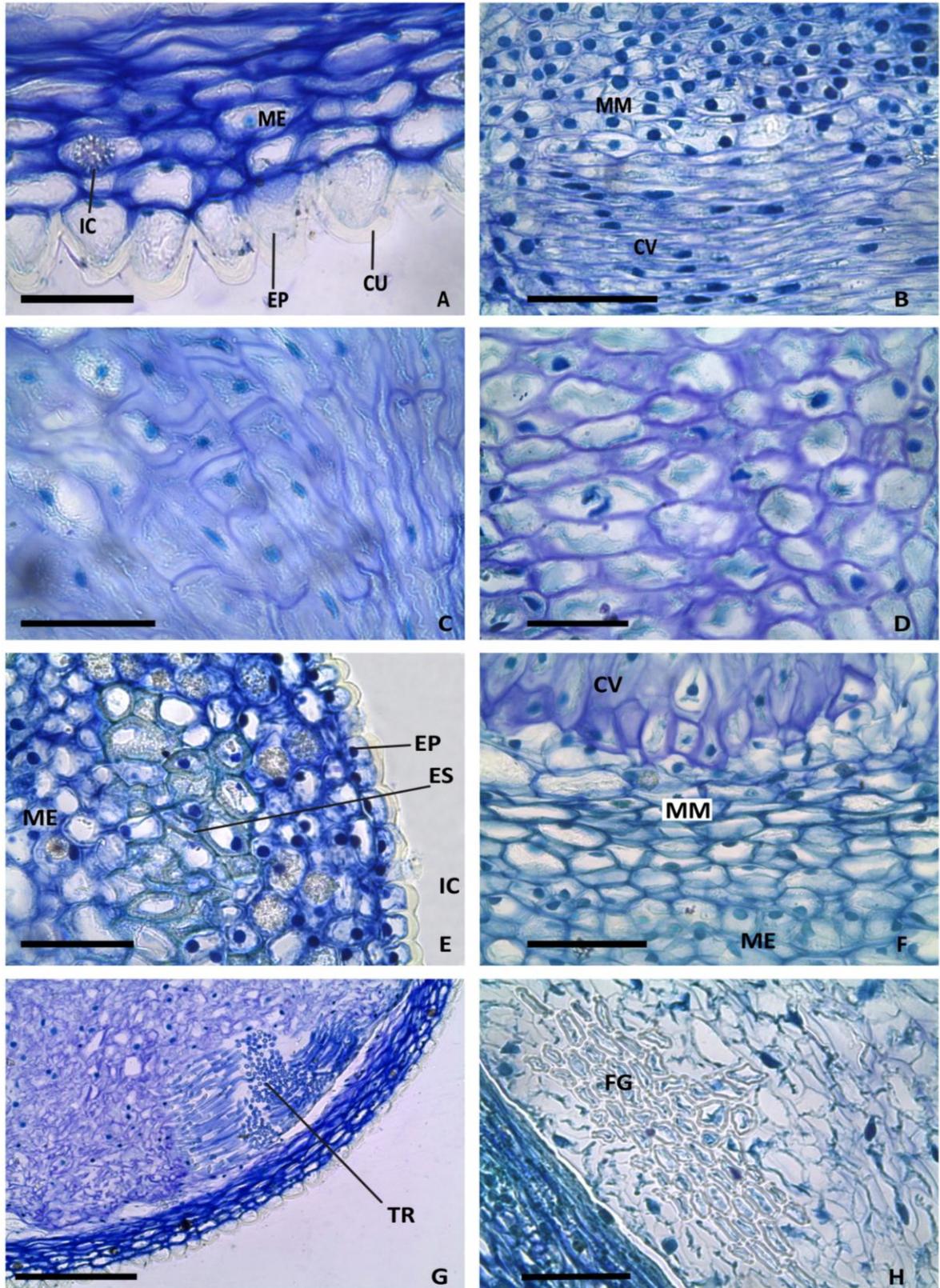


Figura 4. Frutos em desenvolvimento de *Phoradendron quadrangulare* (E), *Phoradendron dipterum* (A,B,C,G), *Phoradendron piperoides* (D,F,H). Fig. A,B,E,F: Paredes mesocárpicas do fruto em desenvolvimento. Fig. C,D: Camada de viscina. Fig. G,H: Região periférica da camada de viscina com células diferenciadas em formação. (cu=cutícula; cv=camada de viscina; ep=epiderme; es=esclereides; fg=fibras gelatinosas; ic=idioblasto cristalífero (drusa); me=mesocarpo externo; mm=mesocarpo médio; tr=traqueídes. **Escala:** 50 μ m (A,E,G,H), 70 μ m (B,F). 100 μ m (C,D).

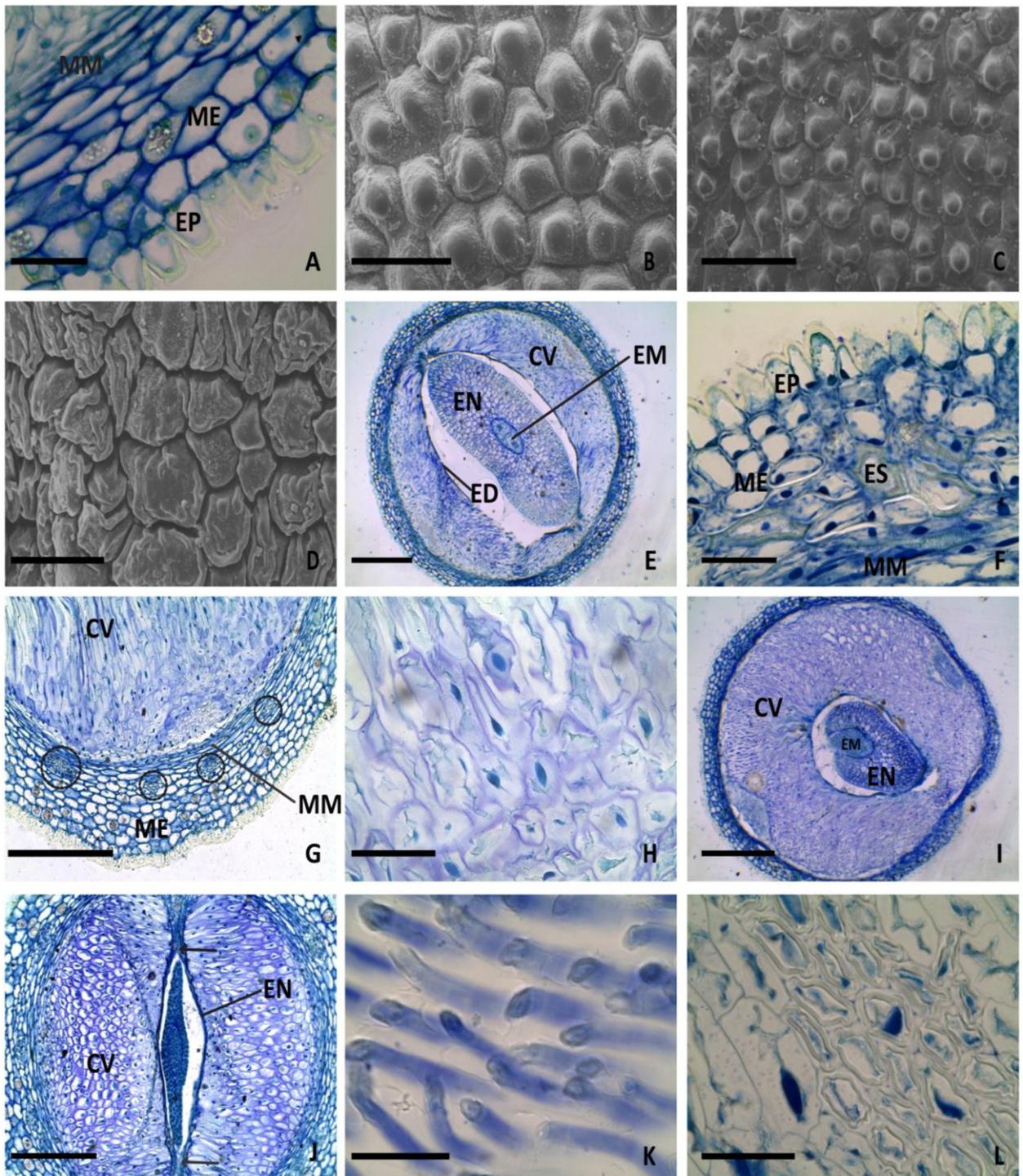


Figura 5. Estrutura de frutos maduros de *Phoradendron quadrangulare* (B,F,H), *Phoradendron dipterum* (C,E,I,K), *Phoradendron piperoides* (A,D,G,J,L). Fig. A,F: Paredes mesocárpicas do fruto maduro. Fig. B,C,D: Superfície dos frutos maduros em M.E.V. Fig. E,I: Visão geral do fruto maduro. Fig. G: Mesocarpio externo com feixes vasculares destacados (circunferência tracejada-preto). Fig. H: Camada de viscina no fruto maduro. Fig. J: Região de interrupção da camada de viscina (seta). Fig. K: Traqueídes. Fig. L: Fibras gelatinosas. (cv=camada de viscina; ed= endocarpo; em= embrião; em= endosperma; ep=epiderme; es= esclereídes; me=mesocarpio externo; mm=mesocarpio médio. **Escala:** 20 μ m (E,I,J), 50 μ m(C,D,G), 70 μ m (A,B,F),100 μ m (H,K,L).

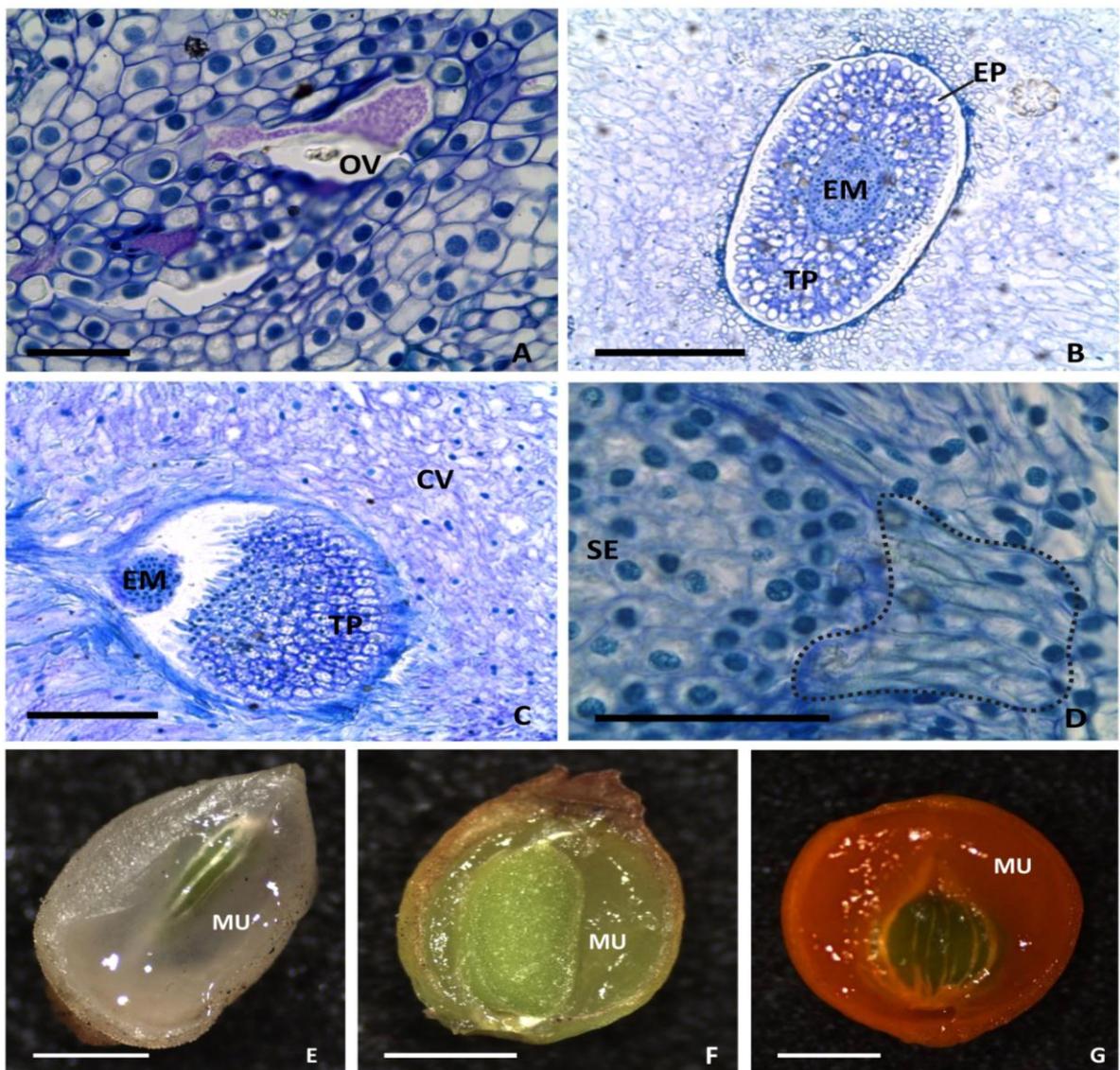


Figura 6: Estrutura da semente de *Phoradendron quadrangulare* (A,G), *Phoradendron dipterum* (B,C,D,E), *Phoradendron piperoides* (F). Fig. A: Óvulo. Fig. B,C: Semente em fase inicial de desenvolvimento. Fig. D: Projeção multicelular em direção aos tecidos basais do fruto (área pontilhada). Fig. E,F,G: Frutos maduros seccionados, mostrando a semente clorofilada envolta por mucilagem. (cv=camada de viscina; em=embrião; ep=epiderme; mu= mucilagem; ov=óvulo; se= semente; tp= tecido parenquimático endospermico).
Escalas: 1 mm (E,F,G), 50 μ m(B,C,D),100 μ m (A).

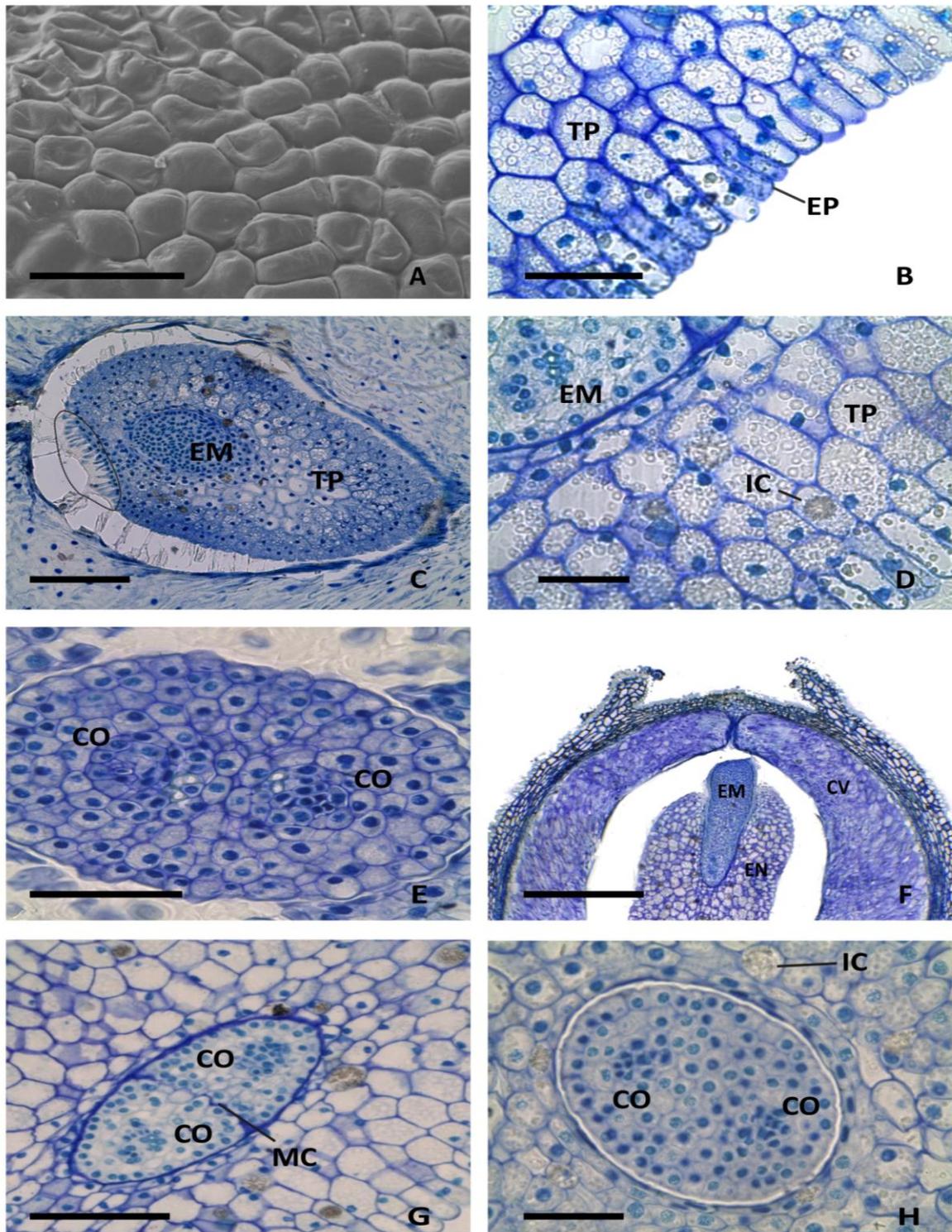


Figura 7. Estrutura da semente desenvolvida de *Phoradendron quadrangulare* (H), *Phoradendron dipterum* (C,E,G), *Phoradendron piperoides* (A,B,D,F). Fig. A: Superfície da semente desenvolvida em M.E.V. Fig. B,D: Estruturas do endosperma (epiderme e tecido parenquimático), Fig. C: Semente em desenvolvimento com destaque (área pontilhada) para células papilosas no polo radicular. Fig. E,G,H: Vista geral do embrião. Fig. F: Semente desenvolvida, mostrando parte do embrião livre do endosperma. (co=cotilédone; cv=camada de viscina; em=embrião; en=endosperma; ep=epiderme; ic=idioblasto cristalífero (drusa); mc=margem cotiledonar; tp=tecido parenquimático endospermico). **Escalas:** 20µm (F,H), 50 µm (A,B,D,G), (F,H) 70 µm (C), 100 µm (E).

ANEXO

ACTA BOTANICA BRASILICA



DIRETRIZES PARA AUTORES

A Acta Botânica Brasilica (Acta bot. bras.) publica artigos originais, comunicações curtas e artigos de revisão, estes últimos apenas a convite do Corpo Editorial. Os artigos são publicados em Português, Espanhol e Inglês e devem ser motivados por uma pergunta central que mostre a originalidade e o potencial interesse dos mesmos aos leitores nacionais e internacionais da Revista. A Revista possui um espectro amplo, abrangendo todas as áreas da Botânica. Os artigos submetidos à Acta bot.bras. devem ser inéditos, sendo vedada a apresentação simultânea em outro periódico.

Sumário do Processo de Submissão. Manuscritos deverão ser submetidos por um dos autores, em português, inglês ou espanhol. Para facilitar a rápida publicação e minimizar os custos administrativos, a *Acta Botanica Brasilica* aceita somente **Submissões On-line**. **Não envie documentos impressos pelo correio.** O processo de submissão on-line é compatível com os navegadores Internet Explorer versão 3.0 ou superior, Netscape Navigator e Mozilla Firefox. Outros navegadores não foram testados.

O autor da submissão será o responsável pelo manuscrito no envio eletrônico e por todo o acompanhamento do processo de avaliação.

Figuras e tabelas deverão ser organizadas em arquivos que serão submetidos separadamente, como **documentos suplementares**. Documentos suplementares de qualquer outro tipo, como filmes, animações, ou arquivos de dados originais, poderão ser submetidos como parte da publicação. Se você estiver usando o sistema de submissão on-line pela primeira vez, vá para a página de 'Cadastro' e registre-se, criando um 'login' e 'senha'. Se você está realmente registrado, mas esqueceu seus dados e não tem como acessar o sistema, clique em 'Esqueceu sua senha'. O processo de submissão on-line é fácil e autoexplicativo. São apenas (cinco) passos. Tutorial do processo de submissão pode ser obtido <http://acta.botanica.org.br/public/tutorialautores.pdf>. Se você tiver problemas de acesso ao sistema, cadastro ou envio de manuscrito (documentos principal e suplementares), por favor, entre em contato com o nosso **Suporte Técnico**.

Custos de publicação. O artigo terá publicação gratuita, se pelo menos um dos autores do manuscrito for **associado da SBB, quite com o**

exercício correspondente ao ano de publicação, e desde que o número de páginas impressas (editadas em programa de editoração eletrônica) não ultrapasse o limite máximo de 14 páginas (incluindo figuras e tabelas). Para cada página excedente assim impressa, será cobrado o valor de R\$ 35,00. A critério do Corpo Editorial, mediante entendimentos prévios, artigos mais extensos que o limite poderão ser aceitos, **sendo o excedente de páginas impressas custeado pelo(s) autor(es)**. Aos autores não associados ou associados em atraso com as anuidades, serão cobrados os custos da publicação por página impressa (R\$35,00 por página), a serem pagos quando da solicitação de leitura de prova editorada, para correção dos autores. No caso de submissão de figuras coloridas, **as despesas de impressão a cores serão repassadas aos autores (associados ou não-associados)**. Consulte o Editor-Chefe para maiores detalhes.

Seguindo a política do Open Access do Public Knowledge Project, assim que publicados, os autores receberão a URL que dará acesso ao arquivo em formato Adobe® PDF (Portable Document Format). Os autores não mais receberão cópias impressas do seu manuscrito publicado.

Publicação e processo de avaliação. Durante o processo de submissão, os autores deverão enviar uma carta de submissão (como um documento suplementar), explicando o motivo de publicar na Revista, a importância do seu trabalho para o contexto de sua área e a relevância científica do mesmo. Os manuscritos submetidos serão enviados para assessores, a menos que não se enquadrem no escopo da Revista. Os manuscritos serão sempre avaliados por dois especialistas que terão a tarefa de fornecer um parecer, tão logo quanto possível. Um terceiro assessor será consultado caso seja necessário. Os assessores não serão obrigados a assinar os seus relatórios de avaliação, mas serão convidados a fazê-lo.

O autor responsável pela submissão poderá acompanhar o progresso de avaliação do seu manuscrito, a qualquer tempo, **desde que esteja logado no sistema da Revista**.

Preparando os arquivos. Os textos do manuscrito deverão ser formatados usando a fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento entre linhas 1,5 e **numeração contínua de linhas**, desde a primeira página. Todas as margens deverão ser ajustadas para 1,5 cm, com tamanho de página de papel A4. Todas as páginas deverão ser numeradas seqüencialmente

O manuscrito deverá estar em formato Microsoft® Word DOC. O documento deverá ser compatível com a versão 2002. Arquivos em formato RTF também serão aceitos. Arquivos em formato Adobe® PDF não serão aceitos. **O documento principal não deverá incluir qualquer tipo de figura ou tabela.** Estas deverão ser submetidas como **documentos suplementares**, separadamente.

O manuscrito submetido (documento principal, acrescido de documentos suplementares, como figuras e tabelas), poderá conter até 25 páginas (equivalentes a 14 páginas impressas, editadas em programa de editoração eletrônica). Assim, antes de submeter um manuscrito com mais de 25 páginas, entre em contato com o **Editor-Chefe**.

Todos os manuscritos submetidos deverão ser subdivididos nas seguintes seções:

1. DOCUMENTO PRINCIPAL

1.1. Primeira página. Deverá conter as seguintes informações:

a) Título do manuscrito, conciso e informativo, com a primeira letra em maiúsculo, sem abreviações. Nomes próprios em maiúsculo. Citar nome científico completo.

b) Nome(s) do(s) autor(es) com iniciais em maiúsculo, com números sobrescritos que indicarão, em rodapé, a afiliação Institucional. Créditos de financiamentos deverão vir em Agradecimentos, assim como vinculações do manuscrito a programas de pesquisa mais amplos (não no rodapé). Autores deverão fornecer os endereços completos, evitando abreviações.

c) Autor para contato e respectivo e-mail. **O autor para contato será sempre aquele que submeteu o manuscrito.**

1.2. Segunda página. Deverá conter as seguintes informações:

a) RESUMO: em maiúsculas e negrito. O texto deverá ser corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo. Deverá ser precedido pelo título do manuscrito em Português, entre parênteses. Ao final do resumo, citar até **5 (cinco) palavras-chave** à escolha do(s) autor(es), em ordem alfabética, não repetindo palavras do título.

b) ABSTRACT: em maiúsculas e negrito. O texto deverá ser corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo. Deverá ser precedido pelo

título do manuscrito em Inglês, entre parênteses. Ao final do abstract, citar até **5 (cinco) palavras-chave** à escolha do(s) autor(es), em ordem de alfabética.

Resumo e abstract deverão conter cerca de 200 (duzentas) palavras, contendo a abordagem e o contexto da proposta do estudo, resultados e conclusões.

1.3. Terceira página e subseqüentes. Os manuscritos deverão estar estruturados em **Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Agradecimentos e Referências bibliográficas**, seguidos de uma lista completa das legendas das figuras e tabelas (se houver), lista das figuras e tabelas (se houver) e descrição dos documentos suplementares (se houver).

1.3.1. Introdução. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá conter:

- a) abordagem e contextualização do problema;
- b) problemas científicos que levou(aram) o(s) autor(es) a desenvolver o trabalho;
- c) conhecimentos atuais no campo específico do assunto tratado;
- d) objetivos.

1.3.2. Material e métodos. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá conter descrições breves, suficientes à repetição do trabalho. Técnicas já publicadas deverão ser apenas citadas e não descritas. Indicar o nome da(s) espécie(s) completo, inclusive com o autor. Mapas poderão ser incluídos (como figuras na forma de documentos suplementares) se forem de extrema relevância e deverão apresentar qualidade adequada para impressão (ver recomendações para figuras). Todo e qualquer comentário de um procedimento utilizado para a análise de dados em Resultados deverá, obrigatoriamente, estar descrito no item Material e métodos.

1.3.3. Resultados e discussão. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. Tabelas e figuras (gráficos, fotografias, desenhos, mapas e pranchas), se citados, deverão ser estritamente necessários à compreensão do texto. **Não insira figuras ou tabelas no texto. Os mesmos deverão ser enviados como documentos suplementares.** Dependendo da estrutura do trabalho, Resultados e discussão poderão ser apresentados em um mesmo item ou em itens separados.

1.3.4. Agradecimentos. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá ser sucinto. Nomes de pessoas e Instituições deverão ser escritos por extenso, explicitando o motivo dos agradecimentos.

1.3.5. Referências bibliográficas. Título com primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. Se a referência bibliográfica for citada ao longo do texto, seguir o esquema autor, ano (entre parênteses). Por exemplo: Silva (1997), Silva & Santos (1997), Silva *et al.* (1997) ou Silva (1993; 1995), Santos (1995; 1997) ou (Silva 1975; Santos 1996; Oliveira 1997). Na seção Referências bibliográficas, seguir a ordem alfabética e cronológica de autor(es). **Nomes dos periódicos e títulos de livros deverão ser grafados por extenso e em negrito.**

Exemplos:

Santos, J.; Silva, A. & Oliveira, B. 1995. Notas palinológicas. *Amaranthaceae*. **Hoehnea** 33(2): 38-45.

Santos, J. 1995. Estudos anatômicos em Juncaceae. Pp. 5-22. In: **Anais do XXVIII Congresso Nacional de Botânica**. Aracaju 1992. São Paulo, HUCITEC Ed. v.I.

Silva, A. & Santos, J. 1997. Rubiaceae. Pp. 27-55. In: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasílica**. São Paulo, Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

Endress, P.K. 1994. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Oxford. Pergamon Press.

Furness, C.A.; Rudall, P.J. & Sampson, F.B. 2002. **Evolution of microsporogenesis in Angiosperms**. http://www.journals.uchicago.edu/IJPS/journal/issues/v1_63n2/020022/020022.html (acesso em 03/01/2006).

Não serão aceitas referências bibliográficas de monografias de conclusão de curso de graduação, de citações de resumos de Congressos, Simpósios, Workshops e assemelhados. Citações de Dissertações e Teses deverão ser evitadas ao máximo e serão aceitas com justificativas consistentes.

1.3.6. Legendas das figuras e tabelas. As legendas deverão estar incluídas no fim do documento principal, imediatamente após as Referências bibliográficas. Para cada figura, deverão ser fornecidas as seguintes informações, em ordem numérica crescente: número da figura, usando algarismos arábicos (Figura 1, por exemplo; não abrevie); legenda detalhada, com até 300 caracteres (incluindo espaços). Legendas das figuras necessitam conter nomes dos táxons com respectivos autores, informações da área de estudo ou do grupo taxonômico.

Ítems da tabela, que estejam abreviados, deverão ser escritos por extenso na legenda. Todos os nomes dos gêneros precisam estar por extenso nas legendas das tabelas.

Normas gerais para todo o texto. Palavras em latim no título ou no texto, como por exemplo: *in vivo*, *in vitro*, *in loco*, *et al.* deverão estar grafadas em *itálico*. Os nomes científicos, incluindo os gêneros e categorias infragenéricas, deverão estar em *itálico*. Citar nomes das espécies por extenso, na primeira menção do parágrafo, acompanhados de autor, na primeira menção no texto. Se houver uma tabela geral das espécies citadas, o nome dos autores deverá aparecer somente na tabela. Evitar notas de rodapé.

As siglas e abreviaturas, quando utilizadas pela primeira vez, deverão ser precedidas do seu significado por extenso. Ex.: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Usar abreviaturas das unidades de medida de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (por exemplo 11 cm, 2,4 µm). O número deverá ser separado da unidade, com exceção de porcentagem, graus, minutos e segundos de coordenadas geográficas (90°, 17°46'17" S, por exemplo).

Para unidades compostas, usar o símbolo de cada unidade individualmente, separado por um espaço apenas. Ex.: mg kg⁻¹, µmol m⁻² s⁻¹, mg L⁻¹. Litro e suas subunidades deverão ser grafados em maiúsculo. Ex.: L, mL, µL. Quando vários números forem citados em sequência, grafar a unidade da medida apenas no último (Ex.: 20, 25, 30 e 35 °C). Escrever por extenso os números de zero a nove (não os maiores), a menos que sejam acompanhados de unidade de medida. Exemplo: quatro árvores; 10 árvores; 6,0 mm; 1,0-4,0 mm; 125 exsiccatas.

Para normatização do uso de **notações matemáticas**, obtenha o arquivo contendo as instruções específicas em <http://www.botanica.org.br/ojs/public/matematica.pdf>. O Equation, um acessório do Word, está programado para obedecer as demais convenções matemáticas, como espaçamentos entre sinais e elementos das expressões, alinhamento das frações e outros. Assim, o uso desse acessório é recomendado.

Em trabalhos taxonômicos, o material botânico examinado deverá ser selecionado de maneira a citarem-se apenas aqueles representativos do táxon em questão, na seguinte ordem e obedecendo ao tipo de fonte das letras: **PAÍS. Estado:** Município, data, fenologia, coletor(es) número do(s) coletor(es) (sigla do Herbário).

Exemplo:

BRASIL. São Paulo: Santo André, 3/XI/1997, fl. fr., Milanez 435 (SP).

No caso de mais de três coletores, citar o primeiro seguido de *et al.* Ex.: Silva *et al.*

Chaves de identificação deverão ser preferencialmente, indentadas. Nomes de autores de táxons não deverão aparecer. Os táxons da chave,

se tratados no texto, deverão ser numerados seguindo a ordem alfabética.

Exemplo:

1. Plantas terrestres
 2. Folhas orbiculares, mais de 10 cm diâm.
.....
 -2. *S. orbicularis*
2. Folhas sagitadas, menos de 8 cm compr.
.....
-4. *S. sagittalis*
1. Plantas aquáticas
 3. Flores brancas.....1. *S. albicans*
 3. Flores vermelhas3. *S. purpurea*

O tratamento taxonômico no texto deverá reservar o itálico e o negrito simultâneos apenas para os nomes de táxons válidos. Basiônimo e sinonímia aparecerão apenas em itálico. Autores de nomes científicos deverão ser citados de forma abreviada, de acordo com o índice taxonômico do grupo em pauta (Brummit & Powell 1992 para Fanerógamas).

Exemplo:

1. *Sepulveda albicans* L., Sp. pl. 2: 25. 1753.
- Pertencia albicans* Sw., Fl. bras. 4: 37, t. 23, f. 5. 1870.

Fig. 1-12

Subdivisões dentro de Material e métodos ou de Resultados e/ou Discussão deverão ser grafadas com a primeira letra em maiúsculo, seguida de um traço (-) e do texto na mesma linha.

Exemplo: Área de estudo - localiza-se...

2. DOCUMENTOS SUPLEMENTARES

2.1. Carta de submissão. Deverá ser enviada como um arquivo separado. Use a carta de submissão para explicitar o motivo da escolha da *Acta Botanica Brasilica*, a importância do seu trabalho para o contexto de sua área e a relevância científica do mesmo.

2.2. Figuras. Todas as figuras apresentadas deverão, obrigatoriamente, ter chamada no texto. Todas as imagens (ilustrações, fotografias, eletromicrografias e gráficos) são consideradas como 'figuras'. **Figuras coloridas poderão ser aceitas, a critério do Corpo Editorial, que deverá ser previamente consultado. O(s) autor(es) deverão se responsabilizar pelos custos de impressão.**

Não envie figuras com legendas na base das mesmas. **As legendas deverão ser enviadas no final do documento principal.**

As figuras deverão ser referidas no texto com a primeira letra em maiúsculo, de forma abreviada e sem plural (Fig.1, por exemplo). As figuras deverão ser numeradas sequencialmente, com algarismos arábicos, colocados no canto inferior direito. Na editoração final, a largura máxima das figuras será

de: 175 mm, para duas colunas, e de 82 mm, para uma coluna.

Cada figura deverá ser editada para minimizar as áreas com espaços em branco, otimizando o tamanho final da ilustração.

Escalas das figuras deverão ser fornecidas com os valores apropriados e deverão fazer parte da própria figura (inseridas com o uso de um editor de imagens, como o Adobe® Photoshop, por exemplo), sendo posicionadas no canto inferior esquerdo, sempre que possível.

Ilustrações em preto e branco deverão ser fornecidas com aproximadamente 300 dpi de resolução, em formato TIF. Ilustrações mais detalhadas, como ilustrações botânicas ou zoológicas, deverão ser fornecidas com resoluções de, pelo menos, 600 dpi, em formato TIF. Para fotografias (em preto e branco ou coloridas) e eletromicrografias, forneça imagens em formato TIF, com pelo menos, 300 dpi (ou 600 dpi se as imagens forem uma mistura de fotografias e ilustrações em preto e branco). **Contudo, atenção!** Como na editoração final dos trabalhos, **o tamanho útil destinado a uma figura de largura de página (duas colunas) é de 170 mm, para uma resolução de 300 dpi, a largura das figuras não deverá exceder os 2000 pixels. Para figuras de uma coluna (82 mm de largura), a largura máxima das figuras (para 300 dpi), não deverá exceder 970 pixels.**

Não fornecer imagens em arquivos Microsoft® PowerPoint, geralmente geradas com baixa resolução, nem inseridas em arquivos DOC. Arquivos contendo imagens em formato Adobe® PDF não serão aceitos. Figuras deverão ser fornecidas como arquivos separados (documentos suplementares), não incluídas no texto do trabalho.

As imagens que não contiverem cor deverão ser salvas como 'grayscale', sem qualquer tipo de camada ('layer'), como as geradas no Adobe® Photoshop, por exemplo. Estes arquivos ocupam até 10 vezes mais espaço que os arquivos TIF e JPG. A *Acta Botanica Brasilica* não aceitará figuras submetidas no formato GIF ou comprimidas em arquivos do tipo RAR ou ZIP. Se as figuras no formato TIF forem um obstáculo para os autores, por seu tamanho muito elevado, estas poderão ser convertidas para o formato JPG, antes da sua submissão, resultando em uma significativa redução no tamanho. Entretanto, não se esqueça que a compressão no formato JPG poderá causar prejuízos na qualidade das imagens. Assim, é recomendado que os arquivos JPG sejam salvos nas qualidades 'Máxima' (Maximum).

O tipo de fonte nos textos das figuras deverá ser o Times New Roman. Textos deverão ser legíveis.

Abreviaturas nas figuras (sempre em minúsculas) deverão ser citadas nas legendas e fazer parte da própria figura, inseridas com o uso de um editor de imagens (Adobe® Photoshop, por exemplo). Não use abreviaturas, escalas ou sinais (setas, asteriscos), sobre as figuras, como “caixas de texto” do Microsoft® Word.

Recomenda-se a criação de uma única estampa, contendo várias figuras reunidas, numa largura máxima de 175 milímetros (duas colunas) e altura máxima de 235 mm (página inteira). No caso de estampa, a letra indicadora de cada figura deverá estar posicionada no canto inferior direito. Inclua “A” e “B” para distingui-las, colocando na legenda, Fig. 1A, Fig. 1B e assim por diante. Não use bordas de qualquer tipo ao redor das figuras. É responsabilidade dos autores obter permissão para reproduzir figuras ou tabelas que tenham sido previamente publicadas.

2.3. Tabelas. As tabelas deverão ser referidas no texto com a primeira letra em maiúsculo, de forma abreviada e sem plural (Tab. 1, por exemplo). **Todas as tabelas apresentadas deverão, obrigatoriamente, ter chamada no texto.**

As tabelas deverão ser seqüencialmente numeradas, em arábico (Tabela 1, 2, 3, etc; não abrevie), com numeração independente das figuras. O título das tabelas deverá estar acima das mesmas. Tabelas deverão ser formatadas usando as ferramentas de criação de tabelas (‘Tabela’) do Microsoft® Word. Colunas e linhas da tabela deverão ser visíveis, optando-se por usar linhas pretas que serão removidas no processo de edição final. Não utilize padrões, tons de cinza, nem qualquer tipo de cor nas tabelas. Dados mais extensos poderão ser enviados como documentos suplementares, os quais estarão disponíveis como links para consulta pelo público.

Mais detalhes poderão ser consultados nos últimos números da Revista.