

Bianca de Azevedo Brasil

**Ciclo de vida, fenologia e anatomia floral de *Pilostyles*
(Apodanthaceae – Rafflesiaceae s.l.): subsídios para um
posicionamento filogenético da família Apodanthaceae**

Life cycle, phenology and floral anatomy of *Pilostyles* (Apodanthaceae -
Rafflesiaceae s.l.): phylogenetic position allowances for Apodanthaceae
family

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

Orientador: Dr. Gregório Ceccantini

São Paulo

2010

RESUMO

As plantas holoparasitas dependem inteiramente de recursos retirados do xilema e floema hospedeiros e são representadas atualmente por pelo menos sete linhagens, cujo posicionamento filogenético continua sendo revisto. A família Apodanthaceae inclui plantas aclorofiladas, holoparasitas de caules, cujo corpo vegetativo apresenta extrema redução. Por serem endoparasitas, tornam-se evidentes apenas na época da floração, quando as diminutas flores rompem a periderme do hospedeiro. Incluem-se nessa família três gêneros, sendo *Pilostyles* o de mais ampla distribuição. Apesar de existirem estudos minuciosos sobre o sistema endofítico no gênero, sua fenologia, ciclo de vida e ontogênese floral continuam desconhecidos. O presente estudo objetiva elucidar essas questões, de modo a proporcionar uma compreensão do sistema reprodutivo e do processo evolutivo das flores dessas intrigantes angiospermas, servindo de base para estudos futuros que visem a estabelecer homologias com outros clados. Primeiramente foi realizado um levantamento dos hospedeiros parasitados, analisando-se padrão de distribuição das flores e a razão sexual das populações de *Pilostyles* existentes nas áreas de estudo no Brasil e México. Indivíduos foram selecionados aleatoriamente para a realização dos testes de polinização, observação e coleta de visitantes, coleta de néctar e de sementes parasitas, e acompanhamento fenológico. Em laboratório realizaram-se os experimentos de germinação e as técnicas de preparo e análise histológicas das sementes e flores de *Pilostyles*. Com relação ao ciclo de vida, observou-se que: 1) as vespas aparecem como os visitantes mais freqüentes; 2) a dispersão provavelmente seja resultado de endozoocoria por aves; 3) a germinação provavelmente ocorre diretamente no caule hospedeiro; 4) as fenologias da hospedeira e da parasita estão diretamente relacionadas, havendo inclusive possibilidade de sincronismo. Com relação à razão sexual das populações, concluímos que: 1) a determinação do sexo das flores responde a estímulos específicos de cada espécie hospedeira; 2) a distribuição espacial das flores esta diretamente relacionada à razão sexual das populações; 3) existem flores monoclinas em número constante em todas as populações, sendo tais flores funcionalmente estaminadas. A partir do estudo da anatomia floral e embriologia, pudemos observar que: 1) as flores são envolvidas por quatro verticilos estéreis (de fora para dentro: 2 + 2 + 4 + 4); 2) a região estigmática é restrita à área das papilas; 3) a deiscência dos microsporângios é resultado da expansão e ressecamento do órgão; 4) os tricomas vesiculares secretam uma substância pegajosa, provavelmente responsável por unir os grãos de pólen e grudá-los ao corpo do polinizador; 5) a coluna das flores estaminadas é formada através de fusão pós-genital de uma coluna estilar central e de uma coluna externa, que traz no bordo superior os sacos polínicos. Concluindo, acreditamos que tais dados merecem destaque pelo ineditismo para a literatura atual da família Apodanthaceae e, principalmente, na sua capacidade de ancorar futuros estudos comparativos com outros táxons, servindo de base na avaliação das propostas taxonômicas vigentes.

ABSTRACT

Holoparasitic plants depend entirely on resources from the host xylem and phloem and are currently represented by at least seven lineages, whose phylogenetic position is still being reviewed. The Apodanthaceae family includes stem holoparasitic plants, achlorophyllous, whose vegetative body is extremely reduced. Because they are endoparasites, they become evident only at the time of flowering, when the tiny flowers emerge from the host's bark. There are three genera in this family, being *Pilostyles* the one with broader distribution. There are detailed studies on the endophytic system of this genus, but its phenology, life cycle and floral ontogeny remain unknown. This study aims to elucidate these issues, in order to provide an understanding of the reproductive system and the evolutionary process of the flowers of these intriguing angiosperms. We hope these could be a basis for future studies that aim to establish homologies with other groups of angiosperms. First it was made a survey of parasitized hosts in Brazil and Mexico areas, and then the distribution pattern of flowers and sex ratio of the *Pilostyles* populations were analyzed. Individuals were randomly selected for the experiments of pollination, observation and collection of floral visitors, collecting nectar and phenological monitoring. Meanwhile, in the laboratory, were performed germination experiments and the histological analysis of *Pilostyles* seeds and flowers. Regarding the life cycle, we observed that 1) the wasps are the most frequent visitors; 2) the dispersion is probably a result of endozoochory by birds; 3) germination probably occurs directly in host's stem; 4) the host and parasite phenologies are directly related; there is a possibility of timing. Regarding the sex ratio of the populations, we conclude that: 1) sex determination of *Pilostyles* flowers seems to respond to specific stimuli of each host species; 2) the spatial distribution of staminate and pistillate flowers is directly related to the sex ratio of the populations; 3) there are monoclinal flowers in constant number in all populations, and these flowers are functionally staminate. From the study of floral anatomy and embryology, we observed that: 1) the flowers are surrounded by four whorls of scales, thereby arranged from outside to inside: 2 + 2 + 4 + 4; 2) the stigmatic surface is restricted to the area with papillae, 3) the dehiscence of the pollen sacs is a result of synandrium expansion and dryness, occurring initially by individual transverse slit; 4) the vesicular trichomes secrete a sticky substance, probably responsible for uniting the pollen grains and stick it to the pollinator's body; 5) the column of staminate flower is formed by post-genital fusion of a central column, the sterile gynoecium, and an external column, which brings the pollen sacs in the upper board. In conclusion, we believe that such data should be highlighted by the novelty for the Apodanthaceae family literature, and especially in its ability to underpin comparative studies with other taxa, being a basis to evaluate current taxonomic proposals.

PREFÁCIO

Este estudo foi idealizado no sentido de dar continuidade a uma linha de pesquisa em plantas parasitas existente no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade de São Paulo (USP). Essa linha foi iniciada pela Dra. Margarida Venturelli na década de 70 passada e, após seu súbito falecimento, interrompida por aproximadamente trinta anos. A retomada veio com os trabalhos de Ceccantini e Amaral (2005), Groppo e colaboradores (2007) e Amaral (2007), que versam sobre a distribuição geográfica, impacto no hospedeiro e anatomia do sistema endofítico de *Pilostyles ulei* Solms-Laub.

Após extensa revisão da bibliografia, tornou-se evidente a falta de conhecimentos básicos a respeito do ciclo de vida na família Apodanthaceae, incluindo tópicos como polinização, germinação e estabelecimento, além da ausência de estudos versando sobre a distribuição das flores na população e sistema reprodutivo das espécies. Existe uma profusão de trabalhos lançando hipóteses, das mais díspares possíveis, entretanto não existem estudos específicos publicados na literatura. Tamanha falta de conhecimento levou à formulação de um projeto de mestrado amplo, impulsionado muitas vezes por grande curiosidade científica, preocupado em analisar o gênero *Pilostyles* a nível populacional e individual, a fim de alavancar o maior número possível de características nunca dantes descritas.

O Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de São Paulo tem incentivado seus alunos a apresentarem a Dissertação/Tese em forma de artigos científicos, no intuito de acelerar o respectivo processo de publicação. A apresentação no formato de artigos, apesar de ser tendência nacional, cria determinadas dificuldades, principalmente quanto ao aprofundamento do tema em estudo, visto que o texto de um artigo é mais conciso que o de uma Dissertação/Tese.

Por esses motivos, optamos pela estrutura da presente dissertação sob a forma de capítulos. A apresentação dessa forma assegura ao estudo o caráter de totalidade, ao

mesmo tempo em que permite uma discussão pormenorizada de alguns aspectos. Ao todo foram organizados quatro capítulos, que abrangem aspectos dos mais gerais aos mais específicos:

- Capítulo I. Ciclo de vida e fenologia – apresenta um estudo amplo a respeito de características do ciclo de vida da parasita *Pilostyles ulei* até então pouco exploradas na literatura mundial, como sistemas de polinização, dispersão, germinação e estabelecimento. Inclui ainda resultados de um acompanhamento fenológico da parasita e de sua hospedeira realizado durante dois anos. Tendo em vista a falta de estudos e de metodologias pré-estabelecidas no estudo de plantas holoparasitas, em tal capítulo ficam visíveis as dificuldades encontradas pela equipe na realização dos experimentos, principalmente aqueles envolvendo coleta de néctar e germinação.
- Capítulo II. População e razão sexual – inclui estudos realizados a nível populacional em duas espécies de distribuição disjunta, *Pilostyles ulei* (Brasil) e *P. thurberi* (México). Mostra resultados das análises de distribuição das flores na população, e em cada hospedeiro, e estudo da razão sexual das espécies. Ressalta como tais características podem vir a influenciar no sistema reprodutivo das parasitas, e levanta hipóteses acerca da esporidade das populações.
- Capítulo III. Morfologia e anatomia floral – inclui resultados da análise anatômica e morfológica das flores de *P. ulei* e *P. thurberi*, ressaltando semelhanças e diferenças entre tais espécies. Estudos anatômicos detalhados sobre a família são escassos na literatura mundial, de modo que existem amplas discussões a respeito da natureza de determinadas peças florais, como origem dos verticilos estéreis e dos sacos polínicos, número de carpelos constituintes do gineceu, etc. Este capítulo em especial visa à caracterização detalhada das flores da parasita, proporcionando uma

oportunidade única de entender o processo evolutivo de tais flores e estabelecer homologias com outros grupos de angiospermas.

- Capítulo IV. Esporogênese e gametogênese - o estudo da embriologia de *Pilostyles* não estava incluso no projeto de mestrado original, mas surgiu naturalmente de acordo com a experiência da mestranda, que realizou Iniciação Científica sobre o tema, sob orientação do professor Jorge E. A. Mariath, na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Em tal capítulo pode-se perceber que as características embriológicas de *P. ulei* se mantiveram constantes, sendo, portanto, de alto interesse para futuros estudos lidando com a filogenia da família.

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas parasitas caracterizam-se por possuir uma estrutura, o haustório, que funciona como uma ponte através da qual retiram parte ou toda sua nutrição diretamente dos seus hospedeiros (Kuijt 1969). Tal estrutura é um órgão modificado, possivelmente homólogo à raiz, que penetra nos tecidos do hospedeiro e é responsável pela absorção de água e nutrientes (Nickrent 2002a, Press *et al.* 1990). Segundo Nickrent (2002a) existem dois tipos de haustórios: o primário, que é uma modificação do ápice da radícula, e o secundário, formado a partir de tecidos outros que não a radícula do embrião, como raízes secundárias. Entretanto, nem sempre podemos fazer uma correlação direta entre os haustórios e as raízes; o autor adverte que os haustórios das plantas endoparasitas têm uma estrutura mais complexa.

O nível de interferência das plantas parasitas no hospedeiro varia enormemente, desde aquelas que causam relativamente pouco impacto, até aquelas que afetam dramaticamente a fisiologia e fertilidade dos seus hospedeiros (Nickrent 2002a). Até mesmo reações positivas foram observadas, como aumento na ramificação do hospedeiro e, conseqüentemente, na produção de sementes (Gomes & Fernandes 1994).

As plantas parasitas constituem um grupo muito diverso de organismos; sua diversidade é de aproximadamente 4200 espécies, distribuídas irregularmente em 274 gêneros e 18 famílias (Nickrent 2002a). Elas incluem desde árvores e arbustos, até ervas anuais e perenes (Kuijt 1969), e estão representadas em praticamente todos os tipos de habitats existentes (Nickrent 2002a).

Entende-se que o parasitismo é uma característica convergente que evoluiu aproximadamente 12 vezes entre as angiospermas (Barkman *et al.* 2007, Westwood *et al.* 2010) (Fig. 1). Entretanto, é interessante notar que tal modificação evoluiu apenas no clado das magnoliídeas e das eudicotiledôneas, sendo representado no último grupo por 10 linhagens convergentes.

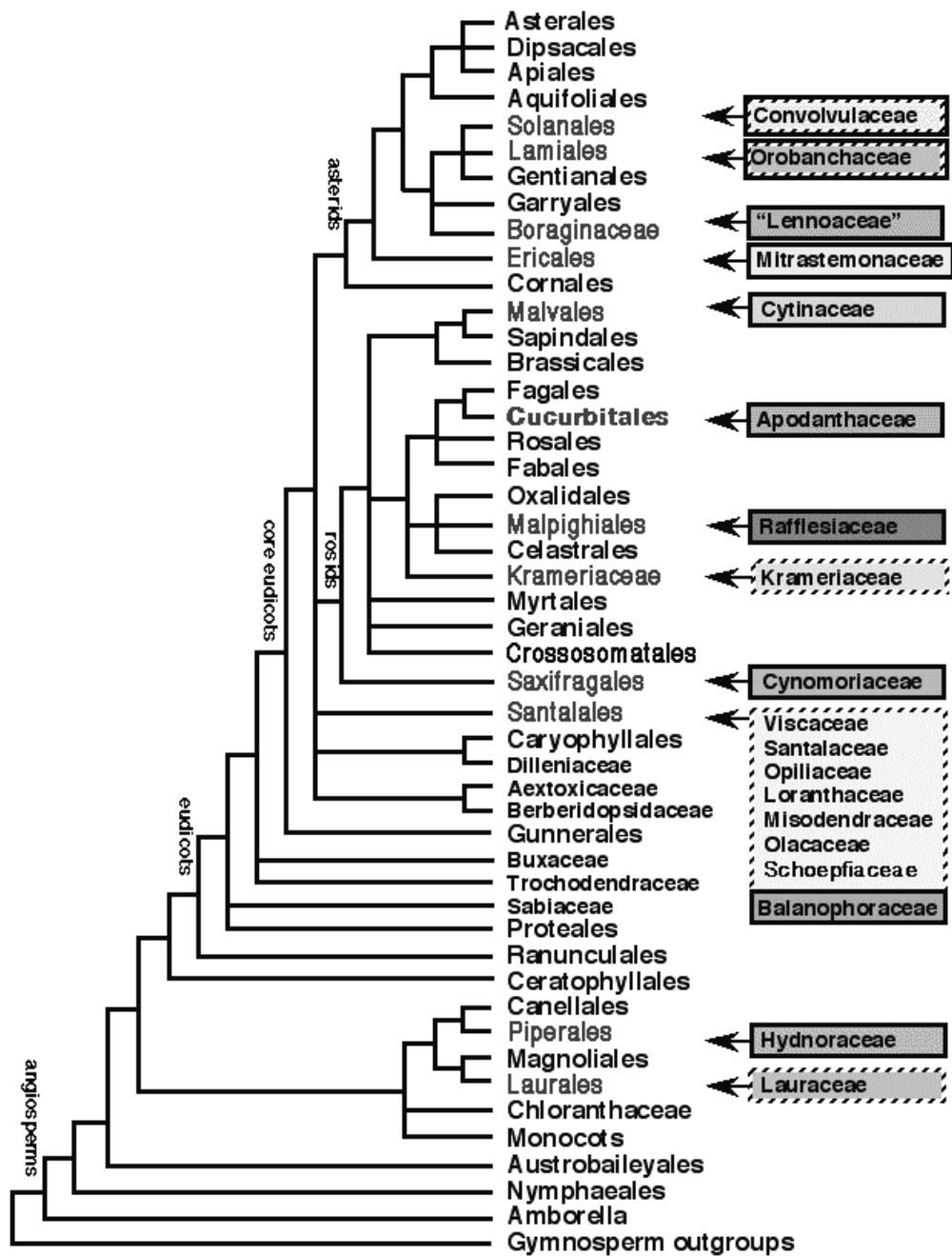


Figura 1. Linhagens de plantas parasitas atuais. Clados dentro de boxes com borda contínua representam holoparasitas e aqueles dentro de boxes pontilhados, hemiparasitas. (retirado de <http://www.parasiticplants.siu.edu/index.html>)

Além de uma classificação baseada nas relações de parentesco (filogenética), podemos classificar as parasitas também de acordo com seu nível de dependência nutricional, dividindo-as em dois grandes grupos: as hemiparasitas e as holoparasitas. As

hemiparasitas são clorofiladas e capazes de realizar fotossíntese pelo menos em alguma parte do seu ciclo de vida, podendo ser divididas ainda em facultativas, quando não necessitam de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida, ou obrigatórias, quando tal associação faz-se necessária.

As plantas holoparasitas dependem inteiramente de recursos retirados do xilema e floema hospedeiros (Nickrent 2002a). Seu modo de vida representa a mais extrema manifestação do parasitismo, uma vez que implica em adaptações morfo-fisiológicas extremas, tais como redução do corpo vegetativo, perda de cloroplastos e conseqüente ausência de capacidade fotossintética (Stewart & Press 1990, Nickrent *et al.* 1998). Acredita-se que o holoparasitismo tenha evoluído independentemente em pelo menos sete linhagens: Balanophoraceae, Cynomoriaceae, Hydnoraceae, Cuscutaceae, Lennoaceae, Orobanchaceae e Rafflesiales (Nickrent 2002a); entretanto as afinidades filogenéticas desses taxa continuam dúbias.

O posicionamento da antiga ordem Rafflesiales dentre as angiospermas foi, e continua sendo, um desafio para os sistematas. Anteriormente, Rafflesiales foi posicionada em Rafflesianae próximo a Aristolochiaceae no sistema de Takhtajan (1980); em Rosidae próximo a Santanales, Proteales e Celastrales no sistema de Cronquist (1981); em Magnolianae próximo a Aristolochiaceae no sistema de Dahlgren (1991); e em Rafflesianae próximo a Piperinae no sistema de Thorne (1992). Mais atualmente Rafflesiales foi posicionada em um grupo não resolvido, incluindo muitas famílias de magnoliídeas, na base das angiospermas (APG 1998). Em todos esses sistemas a ordem Rafflesiales incluía as famílias Rafflesiaceae *s.l.* e Hydnoraceae.

Estudos moleculares recentes na tentativa de posicionar a ordem têm igualmente fracassado. Em um estudo de Nickrent (2002b), baseado em análises de DNA nuclear, a família Hydnoraceae foi posicionada próximo à Piperales, e distante das demais Rafflesiales. Nesse mesmo estudo ainda, a ordem Rafflesiales foi considerada monofilética e posicionada em Malvales, dentro das eudicotiledôneas (Fig. 2).

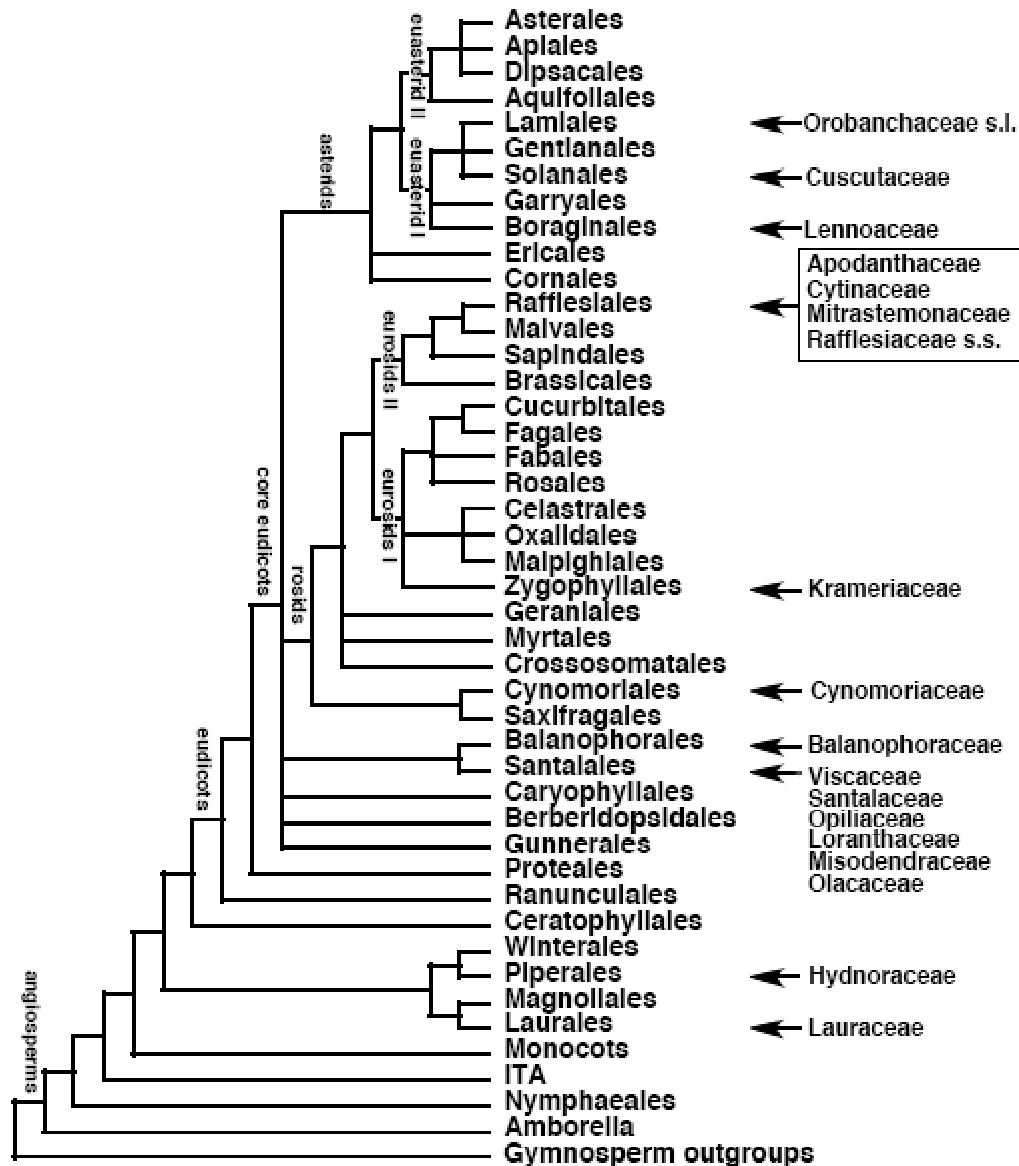


Figura 2. Cladograma das angiospermas; em detalhe, à direita, indicados os taxa de parasitas haustoriais. Ordem Rafflesiales aparece destacada dentro de um box. As iniciais “ITA” referem-se às famílias Illiciaceae, Trimeniaceae, e Austrobaileyaceae. (retirado de Nickrent 2002b)

No sistema de classificação de APG II (2003), entretanto, Rafflesiales (sem Hydnoraceae) foi colocada em um grupo de taxa com posição incerta entre as angiospermas. É interessante notar aqui que 7 desses 18 taxa com posição incerta incluem plantas holoparasitas e não fotossintetizantes. Essa dificuldade de posicionamento provavelmente é resultado de uma morfologia extremamente especializada, que dificulta a

detecção de homologias, além da impossibilidade de obter-se DNA do cloroplasto dessas plantas (aclorofiladas) para análise molecular (Nickrent *et al.* 2004). Dificuldades também existem na análise do DNA nuclear, cuja taxa de mutação pode ser até três vezes maior nas plantas holoparasitas, e do DNA mitocondrial, onde relatam-se casos de transferência horizontal de genes entre o hospedeiro e parasita (Nickrent *et al.* 2004, Barkman *et al.* 2007).

A ordem Rafflesiales, como descrita anteriormente, incluía as famílias Rafflesiaceae *sensu stricto*, Cytinaceae, Mitrastemonaceae e Apodanthaceae (APG II 2003), também referidas como tribos dentro da família Rafflesiaceae *sensu lato* por Harms (1935) e Meijer (1993).

Recentes estudos sobre a morfologia floral de Apodanthaceae (Blarer *et al.* 2004), e óvulos e sementes de Rafflesiaceae *s.l.* (Bouman & Meijer 1994) também não chegaram a uma conclusão comum. Blarer e colaboradores (2004) defendem o posicionamento da ordem Rafflesiales dentro de Malvales enquanto Bouman e Meijer (1994) defendem o posicionamento de Rafflesiaceae *s.l.* próximo a Aristolochiales, como sugerido também pela maioria dos botânicos do século XIX.

Em um estudo de Nickrent e colaboradores (2004), a monofilia de Rafflesiales foi negada e inferiu-se que a ordem seria composta por pelo menos 3 (ou 4) linhagens independentes: Rafflesiaceae *s.s.* foi posicionada dentro da ordem Malpighiales; Mitrastemonaceae, a única família da ordem com ovário súpero, foi colocada em Ericales; e Cytinaceae dentro de Malvales. O posicionamento da família Apodanthaceae variou dependendo da análise molecular realizada: a partir da análise do DNA nuclear a família foi posicionada em Malvales e, a partir do DNA mitocondrial, dentro de Cucurbitales. Ainda não se sabe qual a verdadeira afinidade filogenética desta família, mas a transferência horizontal de genes ou contaminação das amostras com tecidos hospedeiros foram descartadas pelos autores, visto que os membros desta família não possuem hospedeiros dentro de Malvales ou Cucurbitales.

Recentemente, Barkman e colaboradores (2007) analisaram três genes mitocondriais para construir a primeira análise filogenética a incluir todas as linhagens de angiospermas parasitas. Nesse estudo, Apodanthaceae foi posicionada dentro de Cucurbitales, entretanto os autores admitem o nível de confiança do posicionamento como sendo baixo, devido a múltiplos eventos de transferência horizontal de genes que teriam ocorrido entre a espécie parasita e seu hospedeiro dificultando as análises.

Apesar do baixo nível de confiança das filogenias de Barkman e colaboradores (2007), nos trabalhos de Souza e Lorenzi (2008) e Stevens (2001 em diante), a família aparece incluída na ordem Cucurbitales. Na recente filogenia de APG III (2009), entretanto, ela continua em grupo não resolvido, de posição incerta junto às demais Angiospermas.

A despeito de seu posicionamento filogenético, a família Apodanthaceae inclui plantas aclorofiladas, holoparasitas endoparasitas de caules, cujo corpo vegetativo apresenta extrema redução. A etimologia da palavra (“*Apodes*” = sem pé” e “*anthos*” = flor) reflete a falta de um sistema vegetativo tradicional: não existem órgãos tradicionais como raiz, caule e folhas, mas somente um sistema endofítico, semelhante a um micélio, completamente embebido nos tecidos do hospedeiro (Amaral 2007). As parasitas tornam-se evidentes apenas na época da floração, quando as diminutas flores rompem a periderme do hospedeiro (Groppo *et al.* 2007).

Incluem-se na família Apodanthaceae três gêneros: *Apodanthes* Poit., com quatro espécies na América tropical, *Berlinianche* (Harms) Vattimo-Gil, com duas espécies na África tropical, e *Pilostyles* Guill, com aproximadamente vinte espécies na América, sudoeste asiático e sudoeste australiano (Blarer *et al.* 2004, Kuijt 1969, Vattimo 1971, Vattimo 1972) (Fig. 3).

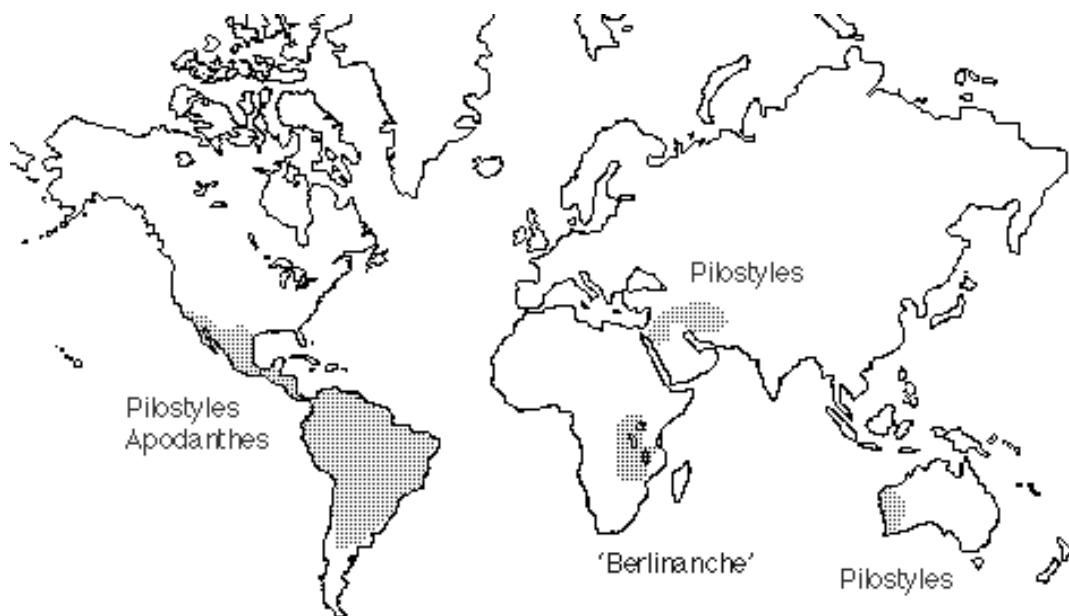


Figura 3. Mapa de distribuição da família Apodanthaceae. (retirado de <http://www.parasiticplants.siu.edu/index.html>)

A separação entre os gêneros *Berlinanche* e *Pilostyles* não é aceita por todos os especialistas. Harms (1935) inclui as duas espécies africanas de *Berlinanche* em uma seção, chamada *Sectio Berlinanche*, dentro do gênero *Pilostyles*. Bouman e Meijer (1994), em estudo da estrutura dos óvulos e sementes de *Rafflesiaceae s.l.*, sugerem igualmente uma inclusão de *Berlinanche* dentro de *Pilostyles*. Vattimo (1971), entretanto, discute esse posicionamento, e afirma se tratarem de dois gêneros, visto que existem significativas diferenças na morfologia do androceu. Segundo ela, nas flores estaminadas de *Berlinanche*, o androceu de estames monoadelphos não se funde à coluna central, como ocorre em *Pilostyles* e *Apodanthes*.

O gênero *Pilostyles* data de 1834, quando Guillemín descreveu em detalhe a espécie *Pilostyles berterii* Guill., separando-a do gênero *Apodanthes*, o qual até então pertencia (Guillemín 1834). Esta separação foi baseada principalmente na morfologia e persistência dos verticilos estéreis que envolvem a flor: em *Apodanthes* as peças do verticilo interno são caducas, enquanto que em *Pilostyles* são persistentes. A etimologia do gênero deriva das palavras gregas “*Pilos*” (barrete que se ajusta à cabeça) e “*stylos*” (coluna), sendo referência

à flor estaminada, que apresenta androceu em forma de coluna terminada por púleo de margem piloso-glandulosa (Vattimo 1972).

O gênero *Pilostyles* é composto por aproximadamente vinte espécies, que se distribuem pelas regiões temperadas e tropicais do mundo todo, mas cujo centro de diversidade é a América tropical (Rutherford 1970, Vattimo 1971, Groppo *et al.* 2007). Inclui espécies endoparasitas de caule de vários gêneros de leguminosas, como *Adesmia*, *Galactia*, *Patagonium*, *Parosela* (Faboideae), *Calliandra*, *Mimosa* (Mimosoideae), entre outras (Vattimo 1971, Vattimo 1972). Apesar da maioria das espécies do gênero ocorrer na América tropical, e quase metade dessas somente no Brasil, os estudos existentes concentram-se em áreas pouco significativas para o gênero. Existem estudos sobre *P. hamiltonni* da Austrália (Dell *et al.* 1982), *P. haussknechtii* do Oriente Médio (Solms-Laubach 1874) e *P. thurberi* da América do Norte (Solms-Laubach 1875, Rutherford 1970, Kuijt *et al.* 1985). O restante da América possui mais de 10 espécies, mas consta com apenas três estudos morfológicos (Endriss 1902, Groppo *et al.* 2007, Amaral 2007).

A espécie *Pilostyles ulei* Solms-Laubach é endoparasita específica de leguminosas arbustivas do gênero *Mimosa* (Vattimo 1972) e possui como sinonímia *Pilostyles ingae* (Karst.) Hook. (Vattimo 1972). Ocorre na Bahia (Stannard 1995), Santa Catarina, Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais (Vattimo 1972). Neste último estado possui distribuição ampla, ocorrendo na Serra do Espinhaço, Serra do Cipó, Serra dos Óculos e Serra do Cabral (Vattimo 1978). Na Serra do Cipó, *Pilostyles ulei* parasita indivíduos de *Mimosa maguirei* Barneby e de *M. foliolosa* Benth. var. *multipinna* (Benth.) Barneby (Groppo *et al.* 2007).

CONCLUSÕES GERAIS

Pilostyles é uma planta holoparasita com morfologia e hábitos altamente incomuns no reino vegetal. Estudá-la é literalmente um desafio, e requer que sejamos capazes de uma nova visão, de adequarmos nossos conceitos à sua realidade, que é tanto diversa quanto intrigante.

Em primeiro lugar, o que devemos ter em mente é que *Pilostyles* é uma planta não-fotossintetizante e endoparasita, cujo corpo vegetativo está completamente embebido nos tecidos do hospedeiro. Esta íntima associação com o hospedeiro é peça chave para entendermos seu ciclo de vida, suas adaptações morfológicas e anatômicas e como funciona seu sistema reprodutivo.

A partir da análise de *Pilostyles* em nível populacional pudemos compreender como estão distribuídas as flores em cada hospedeiro e qual a razão sexual das populações brasileira e mexicanas, fatores estes influenciados mais pela espécie hospedeira do que pela espécie parasita em questão. O modo pelo qual cada hospedeira percebe e traduz o ambiente ao seu redor possui impacto direto no sistema reprodutivo de *Pilostyles*, influenciando a morfogênese floral em cada população.

A influência do hospedeiro em *Pilostyles* não se restringe somente à morfogênese floral, mas pode ser observada em praticamente todas as etapas do ciclo de vida da parasita. Quanto à germinação, para citar um exemplo, faz-se necessária sinalização química específica provinda da hospedeira para induzir o desenvolvimento do haustório e posterior penetração. Quanto à análise fenológica, percebe-se que tal influência é determinante também para marcar a periodicidade dos eventos, uma vez que as fenologias da hospedeira e da parasita estão diretamente relacionadas. O sincronismo nas épocas de floração é um forte indício de que existe um grande intercâmbio de moléculas, inclusive hormonais, entre tais plantas.

A morfologia e anatomia das flores de *Pilostyles* sempre foram itens muito discutidos na literatura, mas pouco estudados. O presente trabalho colabora para o aprofundamento no

conhecimento de tais tópicos através de observações inéditas, que contribuíram não só para corroborarmos/refutarmos teorias já citadas na literatura, mas também como base para construção de novas hipóteses. Especula-se que ao longo da evolução ocorreram eventos de fusão e redução, de modo que a morfologia floral atual da família seja bastante particular, de difícil interpretação. Essa dificuldade resulta não só do alto nível de especialização, mas também da plasticidade das flores, que apresentam número variável de peças em todos os verticilos.

Especial atenção deve ser dada à descoberta da existência de flores monoclinas na família. Tais flores possuem tanto rudimentos seminiais quanto sacos polínicos e ocorrem em todas as populações estudadas, em pequena, mas constante porcentagem. Logo, sua existência não pode ser considerada um evento isolado, mas sim deve ser melhor estudada, de modo a compreendermos quais fatores são determinantes durante a morfogênese floral.

Podemos concluir que o presente estudo é de grande valia para a literatura atual da família Apodanthaceae, até então pouco explorada mundialmente e com muitas lacunas. Em primeiro lugar porque nos possibilita uma maior compreensão do ciclo de vida de *Pilostyles*, abordando temas dos mais diversos, desde germinação, polinização e análises populacionais, garantindo-nos uma visão geral da planta e do seu sistema reprodutivo. Em segundo, porque nos permite evidenciar um grande número de caracteres morfológicos e anatômicos inéditos para a literatura, que poderão ser utilizados para estabelecer homologias com outros clados e, inclusive, possibilitar uma revisão das propostas taxonômicas vigentes.

POSFÁCIO

Imagine uma planta.

Raiz, caule, folhas, flores e frutos.

Agora esqueça (quase) tudo isso. *Pilosyles* é diferente.

E é justamente por causa disso que estudá-la não é tarefa fácil. Somando-se ao hábito endoparasita altamente incomum no reino vegetal, e à todas as complicações metodológicas advindas dele, imagine estudar um organismo virtual, cuja unidade básica não podemos delimitar. É isso mesmo, não podemos delimitar o que é um indivíduo. Dificuldades decorrentes dessa realidade são, por exemplo, nossa incapacidade de afirmar como funciona o sistema reprodutivo e, inclusive, de solucionar qual a esporidade da família. E mais, imagine acompanhar o ciclo de vida e fenologia (com observações mensais) de uma população distante pelo menos 700 km da sua universidade, onde nem mesmo encontrar os indivíduos em campo, visto sua quase invisibilidade nos ramos hospedeiros, é tarefa simples. Não bastasse isso, após extensa inspeção, constata-se que as diferentes populações exibem alta plasticidade morfológica, com flores diferentes dentro de um mesmo hospedeiro, não nos possibilitando estabelecer um número básico para os verticilos florais.

Estudá-las não é fácil, mas com certeza é fascinante. Em primeiro lugar porque as plantas parasitas são intrinsecamente encantadoras; a curiosidade por elas vem crescendo desde o descobrimento em 1821, nas florestas tropicais de Sumatra, da maior flor do mundo, a endoparasita *Rafflesia arnoldii* R. Br. Em segundo porque existe toda uma aura de mistério rondando as plantas parasitas, em especial as holoparasitas; seu modo de vida e morfologia são tão especializados que levaram diversos estudiosos a colocar em dúvida sua natureza vegetal, comparando-as com fungos ou outros organismos. Apesar de toda essa curiosidade, foram publicados poucos estudos específicos até o momento. Por qual razão? Não posso afirmar, mas compreenderia perfeitamente (depois de três longos anos de estudo) se fosse citado o medo do fracasso. E sim, ele é inevitável quando se estuda

plantas tão diferentes, onde nem sempre a adequação dos métodos ocorre de maneira satisfatória.

A realidade é que somos ignorantes quando o assunto são as plantas holoparasitas. Pouco compreendemos da sua morfologia, anatomia, ciclo de vida e relacionamento com hospedeiro, e nem ao menos sabemos com quais outras angiospermas são aparentadas. Mas, a meu ver, é isso que as torna ainda mais interessantes, e fato pelo qual novas pesquisas devem ser realizadas. Há muito o que ser explorado. Com certeza vale a pena investir em *Pilostyles*!

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, M.M. 2007. A estrutura da angiosperma endoparasita *Pilostyles ulei* (Apodanthaceae): interface e impacto no lenho de *Mimosa* ssp. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- APG. 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 531-553.
- APG II. 2003. An update of the Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical journal of Linnean Society* 141: 399-436.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
- BARKMAN, T.J., MCNEAL, J.R., LIM, S-H., COAT, G., CROOM, H.B., YOUNG, N.D. & dePAMPILIS, C.W. 2007. Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. *BMC Evolutionary Biology* 7: 248.
- BLARER, A., NICKRENT, D.L. & ENDRESS, P.K. 2004. Comparative floral structure and systematics in Apodanthaceae (Rafflesiales). *Plant Systematics and Evolution* 245: 119-142.
- BOUMAN, F. & MEIJER, W. 1994. Comparative structure of ovules and seeds in Rafflesiaceae. *Plant Systematics and Evolution* 193: 187-212.
- CECCANTINI, G.C.T. & AMARAL, M.M. 2005. Análises estruturais e moleculares da angiosperma endoparasita *Pilostyles ulei* (Apodanthaceae) e de leguminosas hospedeiras: corpo vegetativo, impacto no lenho e relações de parentesco. Projeto FAPESP.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981.
- DAHLGREN, G. 1991. Step towards a natural system of the dicotyledons: embryological characters. *Aliso* 13: 107-165.
- DELL, B., KUO, J. & BURBIDGE, H. 1982. Anatomy of *Pilostyles hamiltonii* C. A. Gardner (Rafflesiaceae) in stems of *Daviesia*. *Australian Journal of Botany* 30: 1-9.
- ENDRISS, W. 1902. Monographie von *Pilostyles ingae* (Karst.) (*Pilostyles ulei* Solms-Laubach). *Flora* 91: 209-236.

- GOMES, A.L. & FERNANDES, G.W. 1994. Influence of parasitism by *Pilostyles ingae* (Rafflesiaceae) on its host plant, *Mimosa maguirei* (Leguminosae). *Annals of Botany* 74: 205-208.
- GROPPO, M., AMARAL, M.M. & CECCANTINI, G.C.T. 2007. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Apodanthaceae (Rafflesiaceae s.l.), e notas sobre a anatomia de *Pilostyles*. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 25 (1): 81-86.
- GUILLEMIN, M. 1834. Memoire sur le *Pilostyles*, nouveau genre de la famille des Rafflesiacees. *Ann. Sci. Natur. Ser. 2* 2: 19-25.
- HARMS, H. 1935. Rafflesiaceae. pp. 243-281 *In*: Engler, A. & Prantl, K.A.E. [eds.] Die Natürlichen Pflanzenfamilien. 2ed. Band 16b. Berlin: Leipzig Verlag von Wilhelm Engelmann.
- KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- KUIJT, J. *The biology of parasitic flowering plants*. California: University of California Press, 1969.
- KUIJT, J., BRAY, D. & OLSON, A.R. 1985. Anatomy and ultrastructure of the endophytic system of *Pilostyles thurberi* (Rafflesiaceae). *Canadian Journal of Botany* 63: 1231-1240.
- MEIJER, W. 1993. Rafflesiaceae. pp. 557-563 *In*: Kubitzki, K. [ed.]. *The families and genera of vascular plants*. 2. Flowering plants. Dicotyledons. Berlin: Springer.
- NICKRENT, D.L. 2002a. Parasitic plants of the world. Chapter 2, pp. 7-27 *In*: J.A. López-Sáez, P. Catalán and L. Sáez [eds.]. Parasitic plants of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. Madrid: Mundi-Prensa.
- NICKRENT, D.L. 2002b. Phylogenetic origins of parasitic plants. Chapter 3, pp. 29-56 *In*: J.A. López-Sáez, P. Catalán and L. Sáez [eds.]. Parasitic plants of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. Madrid: Mundi-Prensa.
- NICKRENT, D.L., BLARER, A., QIU, Y-L. & VIDAL-RUSSELL, R. 2004. Phylogenetic inference in Rafflesiales: the influence of rate heterogeneity and horizontal gene transfer. *BMC Evolutionary Biology* 4:40.
- NICKRENT, D.L., DUFF, R.J., COLWELL, A.E., WOLF, A.D., YOUNG, N.D., STEINER, K.E. & PAMPHILIS, C.W. 1998. Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. pp. 211-241 *In*: Soltis, D.E., Soltis, P.S. & Doyle, J.J. Molecular Systematics of Plants. II. DNA Sequencing. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- PARASITIC PLANT CONECTION. Disponível em <<http://www.parasiticplants.siu.edu>>, último acesso em maio de 2010.

- PRESS, M.C., GRAVES, J.D. & STEWART, G.R. 1990. Physiology of the interaction of angiosperm parasites and their higher plant hosts. *Plant, Cell and Environment* 13: 91-104.
- RUTHERFORD, R.J. 1970. The anatomy and cytology of *Pilostyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae). *Aliso* 7 (2): 263-288.
- SOLMS-LAUBACH, H. 1974. Ueber den thallus von *Pilostyles haussknechtii*. *Bot. Zeitung* (Berlin) 32: 49-59.
- SOLMS-LAUBACH, H. 1975. Das haustorium der Loranthaceen und der thallus der Rafflesiaceen und Balanophoreen. *Abh. Naturf. Ges. Halle* 13: 238-276.
- STANNARD, B.L. 1995. Rafflesiaceae. In Stannard, B.L. (ed.) Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. Royal Botanic Gardens. Kew, p.544.
- STEWART, G.R. & PRESS, M.C. 1990. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular* 41: 127-151.
- TAKHTAJAN, A.L. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Botanical Review* 46: 225-359.
- THORNE, R.T. 1992. Classification and geography of flowering plants. *Botanical Review* 58: 225-348.
- VATTIMO, I. 1971. Contribuição ao conhecimento da tribo Apodanthea R. Br. Parte I – Conspecto das espécies (Rafflesiaceae). *Rodriguésia* 26 (38): 37-62.
- VATTIMO, I. 1972. Raflesiáceas. In: R. Reitz [ed.] Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues. Itajaí.
- VATTIMO, I. 1978. Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica do gênero *Pilostyles* Guill. (Rafflesiaceae). *Rodriguésia* 3 (45): 7-11.
- WESTWOOD, J.H.; YODER, J.I.; TIMKO, M.P. & dePAMPHILIS, C.W. 2010. The evolution of parasitism in plants. *Trends in Plant Science* 15: 227-235.