

ESTUDIO SOBRE EL TRANSPORTE DE COMPUESTOS FOTOSINTETIZADOS  
EN LA ASOCIACION PARASITICA DE ALGUNAS LORANTACEAS

Phthirusa y Oryctanthus

Tesis de Grado de Magister Scientiae

Juan Eduardo Fuentealba Aburto



Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA  
Centro Tropical de Enseñanza e Investigación  
Departamento de Cultivos y Suelos  
Turrialba, Costa Rica  
Febrero, 1971

ESTUDIO SOBRE EL TRANSPORTE DE COMPUESTOS FOTOSINTETIZADOS  
EN LA ASOCIACION PARASITICA DE ALGUNAS LORANTACEAS  
(Phthirusa y Oryctanthus)

Tesis

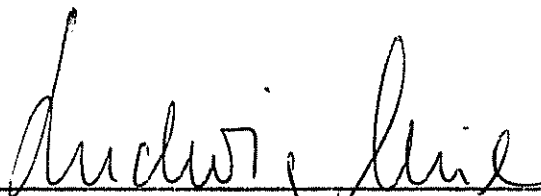
Presentada al Consejo de la Escuela para Graduados  
como requisito parcial para optar al grado de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA:

  
Ludwig Müller, Ph.D.

Consejero

  
José Fargas, Ph.D.

Comité

  
Pierre G. Sylvain, Ph.D.

Comité

  
Oscar Hidalgo-Salvatierra, Ph.D.

Comité

Febrero, 1971

A Any

A Anita Isabel y

María Pilar

## AGRADECIMIENTOS

El autor desea dejar constancia de su agradecimiento a las siguientes instituciones y personas:

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral y Ministerio de Educación de Chile quienes concedieron el permiso para continuar estudios.

Al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, por haber otorgado la beca.

Al Dr. Ludwig Müller, Consejero Principal por su orientación y apoyo en la ejecución de la presente investigación.

A los señores: Dr. José Fargas, Dr. Pierre G. Sylvain y Dr. Oscar Hidalgo-Salvatierra miembros del Comité Consejero, por el asesoramiento y revisión que hicieron posible este trabajo.

Al personal docente y administrativo del IICA-CTEI y a mis compañeros estudiantes, por las muchas atenciones de que fui objeto durante mi permanencia

## BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Valdivia, Chile en el año 1937.

Realizó sus estudios universitarios en la Facultad de Filosofía y Educación, Escuela de Biología y Química de la Universidad Austral de Chile, graduándose en el año 1964.

Desde esa fecha pertenece al personal docente y de investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral y Ministerio de Educación de Chile.

Ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas en setiembre de 1969 para realizar estudios postgraduados, mediante una beca otorgada por este mismo Instituto, egresando en febrero de 1971.

## CONTENIDO

|   | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| 1. INTRODUCCION .....   | 1             |
| 2. REVISION DE LITERATURA .....                                     | 3             |
| 3. MATERIALES Y METODOS .....                                       | 11            |
| 3.1. Preparación del material .....                                 | 11            |
| 3.1.1. Material vegetal .....                                       | 11            |
| 3.1.2. Enraizamiento .....  | 12            |
| 3.1.3. Desarrollo foliar .....                                      | 13            |
| 3.1.4. Medidas fitosanitarias .....                                 | 14            |
| 3.1.5. Fertilización .....  | 14            |
| 3.2. Tratamiento isotópico .....                                    | 14            |
| 3.2.1. Trazador .....   | 14            |
| 3.2.2. Instalación del equipo .....                                 | 14            |
| 3.2.3. Liberación del $^{14}\text{CO}_2$ .....                      | 16            |
| 3.2.4. Material vegetal empleado .....                              | 16            |
| 3.2.5. Tiempo de exposición de las plantas .....                    | 17            |
| 3.2.6. Recolección de las muestras .....                            | 17            |
| 3.3. Análisis radioquímico del material .....                       | 18            |
| 3.4. Autoradiografía .....  | 18            |
| 3.5. Extracción de carbohidratos .....                              | 19            |
| 3.6. Ensayo cromatográfico .....                                    | 19            |
| 3.6.1. Material para cromatografía .....                            | 19            |
| 3.6.2. Solvente .....   | 20            |
| 3.6.3. Identificación de las sustancias en el<br>cromatograma ..... | 20            |
| 4. RESULTADOS .....   | 21            |
| 4.1. Análisis radioquímico .....                                    | 21            |
| 4.2. Autoradiografía .....  | 25            |
| 4.3. Estudio cromatográfico .....                                   | 26            |

|                            | <u>Página</u> |
|----------------------------|---------------|
| 5. DISCUSION .....         | 28            |
| 6. CONCLUSIONES .....      | 32            |
| 7. RESUMEN .....           | 33            |
| 7a. SUMMARY .....          | 35            |
| 8. LITERATURA CITADA ..... | 37            |
| APENDICE .....             | 40            |

## 1. INTRODUCCION

La asociación biológica conocida como parasitismo se presenta en los vegetales y animales.

Según Font Quer (8), en botánica se considera como parásito "al vegetal heterótrofo que se nutre a expensas de organismos vivos tanto animales como vegetales". Pero existen grados de parasitismo según la relación nutritiva entre el parásito y hospedante. Cuando un organismo depende completamente de su hospedante, se habla de holoparasitismo; hemiparasitismo existe cuando en la asociación el parásito tiene capacidad para fotosintetizar. Los muérdagos, que constituyen el objeto del presente estudio están incluidos en esta última categoría.

El nombre de muérdago se usa ampliamente para designar muchos miembros de la familia Loranthaceae, la mayoría de las cuales son hemiparásitos de árboles que habitan zonas tropicales, pero que también se encuentran en zonas templadas. En la zona templada de Norteamérica, por ejemplo, se ubican alrededor de 35 especies de lorantáceas, de las cuales cinco pertenecen al género Arceuthobium, conocidas como "dwarf mistletoes" o muérdago enano; el resto pertenecen al género Phoradendron y son clasificadas corrientemente como muérdagos verdaderos.

Standley (23) indica que en Costa Rica existen en total ocho géneros y 32 especies de lorantáceas y se les designa con el nombre vulgar de "matapalos".

Los integrantes de la familia Loranthaceae constituyen en muchos casos importantes plagas. Según Matte (18), las especies más comunes en Turrialba son dos: Oryctanthus occidentalis (L.)



Eichl. y Phthirusa pyrifolia (H. B. K.) Eichl. Utilizando estas especies comunes de lorantáceas, que habitan los terrenos del IICA en Turrialba, se realizó el presente estudio para tratar de alcanzar los siguientes objetivos:

1. Establecer la presencia o ausencia de traslado de productos fotosintetizados de las lorantáceas al hospedante y viceversa.
2. Determinar con base en el traslado de sustancias, el grado de parasitismo de las lorantáceas y daño que puedan causar al hospedante.

## 2. REVISION DE LITERATURA

El parasitismo de las fanerógamas es el único caso que nos ofrece la naturaleza donde dos plantas "superiores" interactúan estrechamente. Este fenómeno ha interesado principalmente a la patología vegetal, pero en los últimos años se han iniciado estudios fisiológicos, fundamentalmente de traslado de sustancias entre ellas.

Los muérdagos son miembros de la familia Loranthaceae la cual incluye alrededor de 36 géneros con unas 1300 especies distribuidas en todo el mundo, la mayoría son perennes y siempre verdes, parasitando sobre el tallo o ramas de árboles y arbustos (10). Estos parásitos son ampliamente reconocidos como agentes dañinos para sus hospedantes, sus víctimas incluyen especies ornamentales, plantas hortícolas y forestales.

El grado de daño que causan varía con la especie de muérdago, su longevidad e intensidad de parasitismo. Algunas lorantáceas tropicales de vida corta invaden solamente un área local de los tejidos del hospedante y a lo más causan la muerte de la parte distal de las ramas infestadas; sin embargo una infestación múltiple e intensa de este tipo es muy dañina e incluso lleva a la muerte del hospedante (10).

Los efectos de los muérdagos sobre sus hospedantes pueden incluir cualquiera de los siguientes efectos, ya sea solos o más probablemente combinados: reducción del vigor y crecimiento; mal formación de tejidos; follaje ralo; reducción en la calidad de la

madera; predisposición a infecciones secundarias; disminución en la producción de semillas y muerte prematura (6, 10, 12, 16, 28).

La morfología y en especial la anatomía del parasitismo de las lorantáceas han sido más estudiadas que su aspecto fisiológico. Esto se debe a que probablemente las técnicas del estudio fisiológico son más complicadas y sólo en los últimos años se han mejorado y simplificado con el empleo de auxiliares valiosos como son los radioisótopos (18).

La porción visible de una planta de muérdago corresponde al vástago aéreo, el cual es verde y folioso (Oryctanthus, Phthirusa, Phoradendron); pero también pueden ser color variable y sin presentar hojas verdaderas como en Arceuthobium (10).

El muérdago se adhiere e introduce al tallo del hospedante mediante haustorios. A través de este sistema se interconectan los elementos vasculares xilemáticos de ambos asociados (22). Una conexión celular directa entre los elementos vasculares de los haustorios del muérdago y las traqueidas del hospedante ha sido reportada en Arceuthobium (22, 24). Pero esta relación parece ser menos directa en Phoradendron. Además, un tejido floemático diferenciado nunca ha sido observado en Arceuthobium y en Phoradendron está presente únicamente en el vástago (2, 3, 17). De este modo no parece existir una relación especializada entre el floema del hospedante y el sistema endofítico del muérdago (2, 5).

Se han realizado pocas investigaciones sobre la fisiología del parasitismo de los muérdagos. Sin embargo, los patólogos

forestales han aceptado generalmente la hipótesis que el parásito Arceuthobium extrae los productos fotosintetizados de su hospedante, reduciendo el suministro de energía disponible para el árbol (1, 11, 17).

Rediske y Shea (19) realizaron un estudio experimental sobre la nutrición del muérdago enano usando plantitas de pino (Pinus contorta Dougl.) infestadas con Arceuthobium americanum Nutt. Expusieron el follaje terminal de las plantitas a  $^{14}\text{CO}_2$  y después de 24 horas observaron la distribución del carbono radiactivo mediante autorradiografía y análisis radiométrico. Estos autores encontraron que apreciables cantidades de carbono, cromatográficamente identificado como sacarosa, se habían movido desde el hospedante hacia el vástago del muérdago. Una notoria acumulación de  $^{14}\text{C}$  fue observada en el tallo del hospedante, sobre el sitio de infección del muérdago, la cual fue explicada como resultado de una constricción o desorganización del tejido floemático del hospedante causada por el sistema endofítico del parásito. Ellos concluyeron que la declinación del hospedante, que comúnmente se produce en las plantas infestadas, no resultaba directamente del parasitismo de Arceuthobium sino más bien de un anillamiento producido por el sistema endofítico, lo cual inhibe el transporte basipetal.

El trabajo de Freeland (9) tal vez sea el punto de partida en el campo de la fisiología de las lorantáceas. Este autor demostró por primera vez la presencia de clorofila a y b en Phoradendron flavescens (Pursh) Nutt. y la capacidad de esta planta

para fotosintetizar; midió además la fotosíntesis aparente y determinó la intensidad neta de fijación de  $\text{CO}_2$ . Este hecho ha llevado a la mayoría de los investigadores a considerar al verdadero muérdago como un parásito de agua y nutrimentos. Bajo este concepto se han desarrollado algunos trabajos para establecer las relaciones hídricas entre el parásito y su hospedante. Así, Vareschi y Pannier (26), en un estudio sobre la economía del agua en lorantáceas tropicales en su ambiente natural, comprobaron que los hemiparásitos estudiados transpiraban más que sus hospedantes, tanto durante la época lluviosa como durante la época seca. Tales resultados son apoyados por el trabajo de Scholander et al. (20). Estos autores encontraron en especies de Phoradendron y Phrygilanthus una presión hidrostática mayor que en el hospedante. Sin embargo, Wagener (27) reportó un caso donde Phoradendron libocedri infestado en el tronco de un antiguo cedro, aparentemente había vivido por más de 409 años sin el beneficio de su parte aérea lo cual vendría a limitar la generalización del concepto de que el muérdago es solo un "parásito de agua".

Posterior al trabajo de Rediske y Shea (19) se han realizado otros dos utilizando  $^{14}\text{C}$  como trazador isotópico. Así Seledzhanu y Galian-Fabian (21), empleando  $^{14}\text{CO}_2$ , estudiaron el movimiento de los productos de la fotosíntesis en el complejo lorantácea-hospedante, usando como material Viscum album L. sobre Populus nigra. Llegaron a las siguientes conclusiones:

1. Las hojas del muérdago europeo (Viscum album) asimilan  $\text{CO}_2$  en proporción similar, por unidad de superficie, que las hojas de la planta hospedante.
2. La respiración de las hojas del muérdago por unidad de superficie, es de cinco a seis veces mayor que la respiración en las hojas del hospedante; pero por unidad de peso fresco es de dos a tres veces menor.
3. Cuando las hojas de la planta hospedante se mantuvieron en una atmósfera que contenía  $^{14}\text{CO}_2$ , no se comprobó con el contador Geiger traslado alguno de sustancias orgánicas a las hojas del muérdago. En forma similar, cuando las hojas del muérdago fotosintetizaron en una atmósfera de  $^{14}\text{CO}_2$ , no se pudo demostrar traslado de sustancias orgánicas al hospedante.
4. Autoradiografías hechas después de una exposición de las placas por tres semanas, revelaron que hay un intercambio de sustancias orgánicas entre las dos plantas. Las sustancias orgánicas fotosintetizadas por las hojas del álamo expuestas al  $^{14}\text{CO}_2$ , se encontraron en las hojas del muérdago y sustancias orgánicas sintetizadas por las hojas del muérdago aparecieron en la corteza del álamo. Sin embargo los traslados fueron de poca magnitud.

Hull y Leonard (14) realizaron un estudio comparativo de la nutrición de carbohidratos en los muérdagos Arceuthobium y Phoradendron, parasitando Abies concolor (G y G) Lindl. el primero y varios hospedantes el segundo. El follaje terminal de las

ramas infestadas fue expuesto a  $^{14}\text{CO}_2$ . Los autores mencionados observaron el traslado y acumulación mediante autoradiografía y análisis radioquímico. Una diferencia clara en la relación nutricional fue notada entre los dos géneros de muérdagos en estudio; mientras Arceuthobium acumuló gran cantidad del material fotosintetizado por su hospedante en su sistema endofítico y vástago aéreo, Phoradendron no mostró absorción de compuestos carbonados de su hospedante. Esto indica que Phoradendron es esencialmente un "parásito de agua" mientras que Arceuthobium deriva muchos de sus requisitos energéticos, como también agua y minerales, de su hospedante.

Hull y Leonard (14) consideraron que Arceuthobium es nutricionalmente dependiente de su hospedante, ya que absorbe productos que se encuentran en el tallo infestado, reduciendo la provisión de carbohidratos del hospedante y causando así la declinación gradual de éste. Esto difiere de la interpretación dada por Rediske y Shea (19) quienes sugirieron que el daño al hospedante es de tipo físico por formarse en el punto de unión un anillo que impediría el transporte basípetal.

En base a los trabajos anteriores las relaciones parásito-hospedante en las distintas especies de muérdagos parecen ser aún motivo de discusión. Finalmente, Matte (18), empleando  $^{32}\text{P}$  suministrado en forma de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  en solución que se aplicó a las raíces y hojas del hospedante o bien a las hojas de muérdagos de los géneros Phthirusa y Oryctanthus, llegó a las siguientes conclusiones:

1. La distribución del fósforo  $^{32}\text{P}$  en el complejo parásito-hospedante es muy irregular; en algunos casos se acumula más  $^{32}\text{P}$  en las hojas del parásito que en las hojas del hospedante y en otros casos es a la inversa, especialmente cuando las hojas del hospedante son de mayor tamaño que las del parásito.
2. Dentro del parásito mismo, las hojas más jóvenes (las del ápice) presentan mayor acumulación de  $^{32}\text{P}$  que las más viejas.
3. El punto de inserción del parásito en el hospedante acusa mayor acumulación de  $^{32}\text{P}$  que el resto.
4. Las cantidades de fósforo total ( $^{31}\text{P} + ^{32}\text{P}$ ) son mayores en los ápices de los parásitos y en los puntos de inserción y menores en los ápices de los hospedantes y en la parte del tronco por encima de los puntos de inserción.
5. Hubo, aunque en forma limitada, traslado del  $^{32}\text{P}$  absorbido por las hojas del parásito a los tejidos de los hospedantes y viceversa.

Del análisis de la revisión de la literatura consultada se desprende que el conocimiento de la fisiología del parasitismo de los muérdagos es básico para desarrollar métodos de control de estas plantas, las cuales en la gran mayoría de los casos causan graves daños. Así Echandi (6) estudiando el ataque de Phoradendron robustissimum Eichl. sobre el árbol Cordia alliodora (R. et Pav.) Cham. trató de obtener la eliminación del muérdago mediante inyecciones de productos fenoxiacéticos al tronco del hospedante. A pesar de haber aplicado distintas concentraciones



y en diferentes épocas, los resultados no fueron los deseados. Una de las razones dadas por el autor fue justamente de tipo fisiológico: "no hubo traslado del producto dentro del árbol, para llegar éste hasta los haustorios del muérdago". Valdivia (25) reconocía también la importancia de los estudios fisiológicos en este campo al expresar: "el combate de Arceuthobium con sustancias químicas está aún en proceso experimental; como se mencionó con anterioridad todavía no se conoce ampliamente la fisiología del parásito para desarrollar herbicidas o fitohormonas adecuadas para combatirlo sin dañar a la hospedera, ya se aplique por aspersión o por métodos sistémicos.....".

A pesar de tratarse la relación fisiológica parásito-hospedante de un problema de bastante interés, no se ha encontrado en la literatura más antecedentes que los expuestos.

### 3. MATERIALES Y METODOS

Los trabajos se realizaron en el invernadero y laboratorio de Fisiología Vegetal del Centro Tropical de Enseñanza e Investigación del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA en Turrialba, Costa Rica.

#### 3.1. Preparación del Material

##### 3.1.1. Material vegetal

Como material experimental se usaron las siguientes plantas:

| Muérdago                        |       | Hospedante                    |
|---------------------------------|-------|-------------------------------|
| <u>Phthirusa pyrifolia</u>      | sobre | <u>Acalypha wilkesiana</u>    |
| <u>Oryctanthus occidentalis</u> | sobre | <u>Acalypha wilkesiana</u>    |
| <u>Oryctanthus occidentalis</u> | sobre | <u>Hibiscus rosa-sinensis</u> |

Además se expusieron al  $^{14}\text{CO}_2$  hojas de muérdagos Phthirusa pyrifolia que parasitaban sobre tallos defoliados de Acalypha wilkesiana. En estos casos el tallo del hospedante ubicado sobre el punto de inserción del muérdago se había secado y vuelto necrótico a causa de lo avanzado de la infestación parasítica.

Todos los casos tratados correspondían a estacas de los hospedantes con infestación natural de los muérdagos, recolectados en los terrenos del IICA-CTEI.

Como patrón de referencia de la distribución del isótopo en

el hospedante se trataron plantas de Acalypha wilkesiana, que no tenían al muérdago parasitando.

### 3.1.2. Enraizamiento

Fue necesario efectuar el enraizamiento de las estacas de la siguiente forma:

a) Las ramas de los hospedantes que tenían infestado el parásito se cortaron e inmediatamente se sumergieron en un recipiente con agua y fueron trasladadas al invernadero.

b) Se hicieron estacas a partir de ramas del hospedantes de aproximadamente 60 a 90 cm de largo y 1 a 3 cm de diámetro.

Se ensayaron tres métodos de enraizamiento:

- a) Estacas puestas directamente en suelo.
- b) Estacas en solución nutritiva Hoagland No. 2 (13)
- c) Estacas colocadas en agua.

Una vez que las estacas fueron colocadas en el medio respectivo, se les quitaron las hojas al hospedante y al parásito para evitar trastornos por transpiración excesiva.

Las estacas a enraizar en el suelo fueron untadas con Hormodin No. 1\* en polvo (una hormona artificial a base del ácido indolbutírico) y se plantaron en macetas de 20 cm de diámetro y 25 cm de alto, siguiendo la técnica descrita por Matte (18).

---

\* Nombre comercial de la casa Merck y Co. Ltda.

Las otras estacas se colocaron en frascos de 3 1/2 litros de capacidad que contenían la solución Hoagland o agua de grifo. El enraizamiento en solución nutritiva fracasó, ya que las estacas no desarrollaron raíces y por lo tanto se desechó este método.

Las estacas colocadas en agua iniciaron su enraizamiento aproximadamente diez días después de haber sido instaladas.

El enraizamiento se promovió adicionando al agua suficiente ácido indolbutírico para lograr una concentración de 25 ppm.

Una vez que aparecieron las primeras raíces, las estacas se trasladaron a una solución 1/2 Hoagland y cuando el desarrollo de raíces fue abundante, se plantaron en macetas con suelo. Las estacas tratadas con este sistema recuperaron las hojas más rápidamente que aquellas puestas desde el comienzo en suelo.

### 3.1.3. Desarrollo foliar

Una vez que el hospedante y el muérdago produjeron cierta cantidad de nuevas hojas, se sacaron del invernadero y se dejaron a la intemperie donde se continuaron desarrollando; esto se hizo para lograr una mayor luminosidad y así un crecimiento más acelerado del muérdago (10, 28).

Después de cinco meses de crecimiento en estas condiciones, se iniciaron los experimentos de aplicación del  $^{14}\text{CO}_2$ .

Por considerarse de interés las condiciones climáticas en que se desarrollaron las plantas, en el Cuadro 1 del Apéndice se dan los datos meteorológicos para ese período.

### 3.1.4. Medidas fitosanitarias

Desde el aparecimiento de nuevas hojas se efectuaron mensualmente atomizaciones con Malatión al 1%.

### 3.1.5. Fertilización

Para asegurar un suministro adecuado de nutrimentos se aplicó una solución (3 g por litro) de fertilizante foliar (12-60-0).

## 3.2. Tratamiento isotópico

### 3.2.1. Trazador

Los estudios de las relaciones parásito-hospedante se efectuaron usando como trazador el carbono  $^{14}$ , preparado por el Oak Ridge National Laboratory U.S.A., en forma de  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  (0,5  $\mu\text{c}/\text{mg Ba}^{14}\text{CO}_3$ ); el carbono  $^{14}$  es emisor débil. Se suministró como gas  $^{14}\text{CO}_2$  a las hojas del muérdago y a las partes del hospedante.

### 3.2.2. Instalación del equipo

El dispositivo que se usó para la aplicación del  $^{14}\text{CO}_2$  al follaje del hospedante y del parásito (Figs. 1 y 2), consistió en un envase de vidrio, que permitía introducir el follaje en su interior; la boca del envase se cerró con un tapón de caucho el cual tenía dos perforaciones; una para el tallo de la planta y la otra atravesada con un tubo de vidrio. Al final de este tubo y, quedando en el interior del envase, se colocó un frasquito de polietileno en el que se depositó el  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ , este frasquito tenía

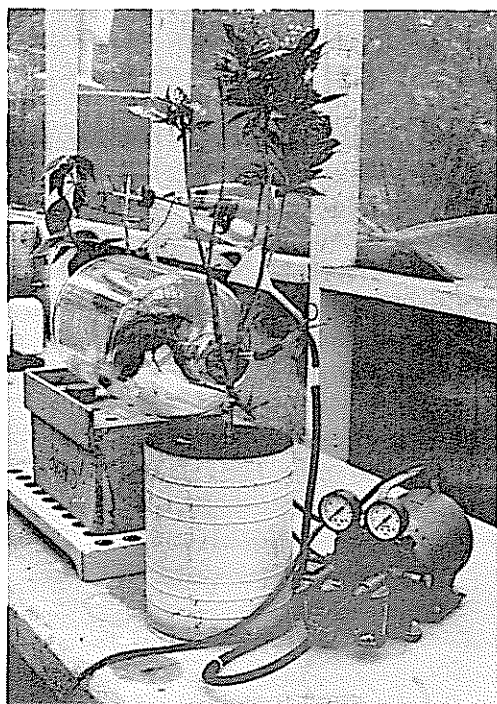
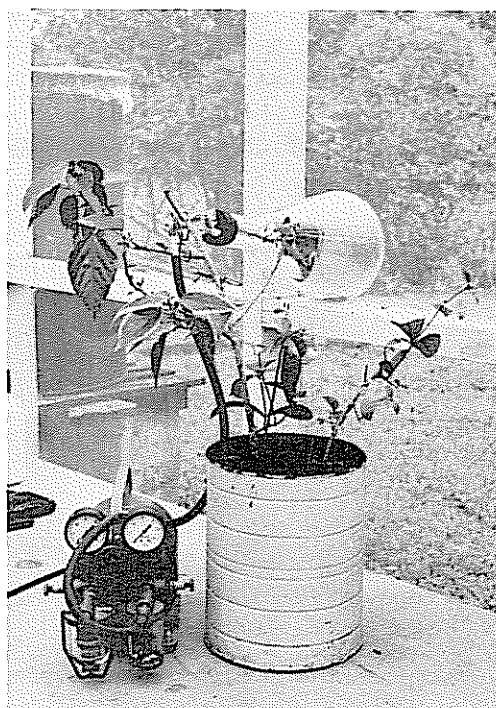


Fig. 1. Dispositivo para la exposición del follaje al  $^{14}\text{CO}_2$ . Tratamiento dado al parásito.

Fig. 2. Dispositivo para la exposición del follaje al  $^{14}\text{CO}_2$ . Tratamiento dado al hospedante.



una perforación en la parte superior para permitir que el  $^{14}\text{CO}_2$  liberado se distribuyera dentro del envase. Para ayudar a que el gas carbónico pasase hacia el envase que contenía el follaje a tratar, se hizo un pequeño vacío con una bomba de succión.

### 3.2.3. Liberación del $^{14}\text{CO}_2$

El envase que contenía el  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  estaba comunicado hacia el exterior con un depósito que contenía HCl concentrado.

Durante un tratamiento normal, 2 cc de HCl concentrado se dejaron escurrir hacia el frasquito que contenía aproximadamente 150  $\mu\text{c}$  de  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ , produciéndose así la liberación del anhídrido carbónico. Para impedir el escape del  $^{14}\text{CO}_2$  hacia el exterior del sistema, éste se selló con plasticina adicionada sobre el tapón de caucho del envase.

### 3.2.4. Material vegetal empleado

La aplicación del anhídrido carbónico marcado se hizo en las combinaciones de parásito-hospedante seleccionadas para ello. Los grupos formados por Phthirusa pyrifolia sobre Acalypha wilkesiana y Oryctanthus occidentalis sobre Acalypha wilkesiana estuvieron integrados por seis ejemplares, y cuatro ejemplares formaron el grupo de Oryctanthus occidentalis sobre Hibiscus rosa sinensis.

La mitad del número de plantas de cada grupo recibió el isótopo en el hospedante y la otra mitad lo recibió en el parásito.

### 3.2.5. Tiempo de exposición de las plantas

El tiempo que las plantas se dejaron fotosintetizar en presencia del isótopo fue normalmente de las 7:30 h a las 17 h durante un día, mientras la intensidad de la luz dentro del invernadero fluctuaba entre un mínimo de 4000 lux y máximo aproximado de 30.000 lux a medio día.

Terminado el tratamiento, la planta se retiró del envase y se dejó transcurrir un período de tiempo de 15 horas y de 144 horas hasta recolectar las muestras. Las plantas permanecieron este tiempo en el invernadero.

### 3.2.6. Recolección de las muestras

Para los análisis se cogieron muestras correspondientes a cuatro posiciones de la planta; estas fueron:

- a) Vástago del muérdago.
- b) Tallo y hojas del hospedante por encima del punto de inserción del muérdago.
- c) Tallo del hospedante por debajo del punto de inserción del muérdago.
- d) Raíces del hospedante.

Cantidades de 5 gramos (peso fresco) de material vegetal por muestra, se cortaron con unas tijeras. Las muestras se introdujeron en alcohol etílico al 90% para preservarlas.



### 3.3. Análisis radioquímico del material

Las muestras se llevaron a un volumen de 50 ml, completando con alcohol etílico al 80%; se agregaron 0,5 gramos de  $\text{CaCO}_3$  y se desmenuzaron en una licuadora "Waring" por un minuto.

El material licuado se traspasó a tubos de centrifuga, lavando las paredes con alcohol de 80%; luego se centrifugó por 5 minutos a 4000 rpm. Del sobrenadante se tomaron alicuotas de un mililitro, las que se colocaron en planchetas de aluminio. Estas se llevaron a sequedad y luego se midió la actividad utilizando un escalímetro marca Nuclear Chicago, modelo 151A, con tubo Geiger-Müller de ventana delgada ( $1,4 \text{ mg/cm}^2$ ). En el castillo donde va ubicado el tubo Geiger-Müller se hizo una adaptación que permitió acercar la muestra a la ventana del contador, quedando entre ambas una distancia de sólo 2 mm. Así se mejoró la eficiencia del tubo siendo esta del 1% para los presentes trabajos con  $^{14}\text{C}$ .

Del sedimento que quedó después de centrifugar cada muestra, se prepararon también planchetas para medir la radioactividad. De esta manera, combinando los valores de las actividades parciales, se obtuvo la actividad total de cada muestra.

### 3.4. Autoradiografía

Para los tratamientos de autoradiografía se utilizaron planchas sometidas a idénticas condiciones que las empleadas para el análisis radioquímico. Se emplearon películas Kodak sensibles

a rayos X, tipo No Screen-54 T.

El procedimiento empleado fue similar al descrito para este tipo de trabajo por Crafts y Yamaguchi (4). Para evitar el contacto directo de la película con el material vegetal, se cubrió éste con un plástico delgado ("Plastic wrap"); seguidamente se montó el material sobre la película y se dejó en exposición por tres semanas.

Las placas de rayos X fueron reveladas de la manera usual, siguiendo las instrucciones que da la Kodak para el material empleado.

### 3.5. Extracción de Carbohidratos

Empleando la técnica usada por Inman (15) en la extracción y clarificación de carbohidratos radiactivos, se obtuvieron extractos que fueron utilizados para separar cromatográficamente los carbohidratos formados en la fotosíntesis debido a la actividad de su contenido de carbono  $^{14}$ .

### 3.6. Ensayo Cromatográfico

#### 3.6.1. Material para cromatografía

Se emplearon cámaras para cromatografía descendente. Se usó papel Whatman N<sup>o</sup> 1 en tiras de 4 cm de ancho y 55 cm de largo.

En cada ensayo se aplicaron en el punto de partida del papel 50  $\mu$ l del extracto.

En las cubetas se midieron 150 ml del solvente. El revelado se dejó descender por 40 horas.

### 3.6.2. Solvente

El solvente utilizado en la cromatografía se preparó sometiendo a reflujo, por una hora, una mezcla de ácido fórmico (90%, 50 ml), n-butanol (600 ml) y agua (50 ml). Después se agregó 300 ml de agua y se agitó bien. Una vez fría la mezcla se la transfirió a un embudo de separación donde se dejó en reposo por 24 horas, intervalo al término del cual se separó la fase superior, la cual quedó lista para usarse (29).

### 3.6.3. Identificación de las sustancias en el cromatograma

Los cromatogramas secados se asperjaron con una solución al 10% de molibdato de amonio y se calentaron los papeles a 100°C por 10 minutos. Los azúcares aparecieron como manchas primeramente amarillas y después de seis horas se volvieron de color azul sobre un fondo incoloro, siempre que no se expusieran los papeles a luz fuerte (7).

Porciones del papel que contenían las manchas de los azúcares sacarosa, glucosa y fructosa, se cortaron en forma de un círculo de diámetro similar al de las planchetas, para contar la actividad de las sustancias impregnadas.

La identificación de estas sustancias se hizo por comparación con patrones de azúcares puros que corrieron paralelamente en el desarrollo cromatográfico.

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Análisis radioquímico

Durante el curso de la investigación, la distribución de los productos fotosintetizados por el muérdago u hospedante fue observada en 16 asociaciones de parásito-hospedante, mediante la detección del isótopo aplicado.

A continuación se presentan los resultados para los tres grupos de asociaciones de parásito-hospedante tratados y que correspondieron a:

Grupo 1

Phthirusa pyrifolia sobre Acalypha wilkesiana

Grupo 2

Oryctanthus occidentalis sobre Acalypha wilkesiana

Grupo 3

Oryctanthus occidentalis sobre Hibiscus rosa sinensis

En el grupo formado por la asociación de Phthirusa pyrifolia sobre Acalypha wilkesiana (Cuadro 1), tres tratamientos de  $^{14}\text{CO}_2$  se hicieron sobre el hospedante y tres sobre el muérdago.

Al aplicar el isótopo al hospedante, hubo una distribución a través de toda la planta pero la concentración varió en las distintas partes muestreadas. Del total de los tratamientos, dos fueron muestreados a las 15 horas después de haber terminado la exposición al  $^{14}\text{CO}_2$ . En estos casos prácticamente toda la actividad estuvo concentrada en las hojas que recibieron el trata-

Cuadro 1. Actividad específica\* en el hospedante y en el muérdago para la asociación de Phthirusa pyrifolia sobre Acalypha wilkesiana.

| Muestras** | Tiempo después de la exposición al $^{14}\text{CO}_2$ en el: |       |       |          |       |        |
|------------|--|-------|-------|----------|-------|--------|
|            | Hospedante   |       |       | Muérdago |       |        |
|            | 15 h   | 144 h |       | 15 h     | 144 h |        |
| H.N.M.     | 00   | 00    | 00    | 103730   | 94580 | 112350 |
| H.V.M.     | 00   | 00    | 00    | 91570    | 89780 | 104920 |
| P.S.H.     | 96730  | 56858 | 49780 | 00       | 00    | 00     |
| P.I.H.     | 11410  | 4320  | 7140  | 00       | 00    | 00     |
| R.H.       | 4590   | 42336 | 53460 | 00       | 00    | 00     |

\* cpm/g de peso fresco

\*\* H.N.M. Hojas nuevas del muérdago  
H.V.M. Hojas viejas del muérdago  
P.S.H. Tallo y hojas del hospedante superior al punto de inserción del muérdago  
P.I.H. Tallo del hospedante inferior al punto de inserción del muérdago  
R.H. Raíces del hospedante.

miento; en cambio, las muestras de los otros cuatro tratamientos tomados a las 144 horas, indicaron un traslado de las sustancias marcadas con acumulación en las raíces.

Los tratamientos de  $^{14}\text{CO}_2$  aplicados al muérdago mostraron que éste parece fijarlo en mayor cantidad en las hojas nuevas que en las hojas viejas. Las muestras recolectadas a las 15 horas o bien a las 144 horas después de la exposición al isótopo no mos-

traron diferencia apreciable en su actividad. En la asociación parásito-hospedante mostrada en el Cuadro 1, no hubo traslado de sustancias marcadas entre ambas plantas.

En el Cuadro 2 se dan los resultados obtenidos para la asociación de Oryctanthus occidentalis sobre Acalypha wilkesiana.

Cuadro 2. Actividad específica en el hospedante y en el muérdago para la asociación de Oryctanthus occidentalis sobre Acalypha wilkesiana.

| Muestras | Tiempo después de la exposición del $^{14}\text{CO}_2$ en el: |        |          |       |        |        |
|----------|---|--------|----------|-------|--------|--------|
|          | Hospedante  |        | Muérdago |       |        |        |
|          | 15 h  | 144 h  | 15 h     | 144 h |        |        |
| H.N.M.   | 00  | 00     | 00       | 97580 | 105730 | 106200 |
| H.V.M.   | 00  | 00     | 00       | 89860 | 96080  | 92570  |
| P.S.H.   | 118430  | 109780 | 45700    | 00    | 00     | 00     |
| P.I.H.   | 12060   | 8750   | 6300     | 00    | 00     | 00     |
| R.H.     | 8250  | 8120   | 66450    | 00    | 00     | 00     |

Este grupo recibió el isótopo en tres casos el hospedante y en los otros tres el muérdago. Sólo hubo distribución del isótopo dentro de la planta tratada; no se detectó intercambio de sustancias entre los asociados.

Cuatro tratamientos fueron recolectados 15 horas después de terminada la exposición el isótopo y dos después de 144 horas.

Se apreció, al igual que en la asociación de Phthirusa pyrifolia-Acalypha wilkesiana, un transporte basipetal el cual se vio incrementado al dejar pasar un tiempo mayor entre la exposición al  $^{14}\text{CO}_2$  y la recolección de la muestra.

Las hojas nuevas del muérdago fijaron más  $^{14}\text{CO}_2$  que las hojas viejas.

El Cuadro 3 resume los resultados de la asociación de Oryctanthus occidentalis sobre Hibiscus rosa sinensis. Se puede notar que no hubo traslado de sustancias entre el muérdago y el hospedante y viceversa. También señala una distribución dentro de la planta que recibió el isótopo similar a los dos grupos anteriores.

Cuadro 3. Actividad específica en el hospedante y en el muérdago para la asociación de Oryctanthus occidentalis sobre Hibiscus rosa sinensis.

| Muestras | Tiempo después de la exposición al $^{14}\text{CO}_2$ en el: |       |          |       |
|----------|--|-------|----------|-------|
|          | Hospedante   |       | Muérdago |       |
|          | 15 h   | 144 h | 15 h     | 144 h |
| H.N.M.   | 00   | 00    | 88090    | 99630 |
| H.V.M.   | 00   | 00    | 83120    | 96780 |
| P.S.H.   | 82770  | 58220 | 00       | 00    |
| P.I.H.   | 5860   | 6480  | 00       | 00    |
| R.H.     | 3340   | 67190 | 00       | 00    |

Los tratamientos correspondientes a plantas sanas de Acalypha wilkesiana, o sea que no tenían al muérdago parasitando, se muestrearon, unas a las 15 horas y las otras a las 144 horas después de la exposición al isótopo y se obtuvieron los resultados que se señalan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Actividad específica en Acalypha wilkesiana. (Valores promedios de tres tratamientos).

| Muestras | Tiempo después de la aplicación del $^{14}\text{CO}_2$ |           |
|----------|--|-----------|
|          | 15 horas   | 144 horas |
| Follaje  | 81450  | 26215     |
| Tallo    | 18930  | 6840      |
| Raíz     | 4615   | 44565     |

La aplicación del  $^{14}\text{CO}_2$  al follaje del muérdago Phthirusa pyrifolia el cual parasitaba sobre un hospedante que había perdido su follaje a causa de lo avanzado de la infestación, dio como resultado una distribución del isótopo solamente en el follaje donde se hizo la aplicación, pero no se detectó paso de sustancias marcadas a la raíz del hospedante.

#### 4.2. Autoradiografía

En las autoradiografías, después de un tiempo de exposición de tres semanas, no se detectó intercambio de sustancias marca-



das entre las plantas asociadas.

#### 4.3. Estudio cromatográfico

Con las muestras tomadas del muérdago y hospedante, siguiendo la técnica empleada por Wiggins y Williams (29), se hicieron cromatogramas para identificar los carbohidratos presentes.

Los resultados obtenidos están resumidos en el Cuadro 5. En los valores indicados se ha descontado la actividad de fondo.

Cuadro 5. Distribución del  $^{14}\text{CO}_2$  (cpm/plancheta) entre los azúcares identificados en Acalypha wilkesiana y Oryctanthus occidentalis.

| Recolección de la muestra después de | Azúcar identificado | Especie sobre la que se aplicó el $^{14}\text{CO}_2$ |        |      |          |        |
|--------------------------------------|---------------------|--|--------|------|----------|--------|
|                                      |                     | Hospedante   |        |      | Muérdago |        |
|                                      |                     | P.S.H.   | P.I.H. | R.H. | H.N.M.   | H.V.M. |
| 15 horas                             | Sacarosa            | 42   | 0      | 0    | 46       | 40     |
|                                      | Glucosa             | 12   | 0      | 0    | 16       | 16     |
|                                      | Fructosa            | 11   | 0      | 0    | 9        | 10     |
| 144 horas                            | Sacarosa            | 26   | 0      | 22   | 30       | 25     |
|                                      | Glucosa             | 10   | 0      | 18   | 8        | 8      |
|                                      | Fructosa            | 9  | 0      | 16   | 6        | 6      |

Los resultados de los cromatogramas revelan que la mancha correspondiente a la sacarosa era, en todos los casos, la de mayor tamaño e intensidad.

Las muestras del hospedante tomadas 15 horas después de haberlas expuesto al isótopo, mostraron actividad solamente en las hojas y tallo ubicado más arriba del punto de inserción del muérdago. La actividad apareció principalmente en forma de sacarosa; la glucosa y fructosa tuvieron una actividad igual entre ellas pero inferior a la sacarosa.

Las muestras correspondientes a la región inferior del tallo y a la raíz del hospedante no mostraron actividad.

Los cromatogramas hechos de las muestras de hojas y tallo de la parte superior y de la raíz del hospedante, cogidas 144 horas después de la exposición al  $^{14}\text{CO}_2$ , mostraron actividad, no así la muestra tomada de la parte del tallo ubicada entre la inserción del muérdago y la raíz. Al igual que en las muestras tomadas a las 15 horas, la mayor actividad se acumuló en forma de sacarosa.

Cuando las aplicaciones del isótopo se hicieron al follaje del muérdago, los cromatogramas de las muestras obtenidas de éste revelaron la presencia de los azúcares sacarosa, glucosa y fructosa, donde también fue la sacarosa quien presentó la mayor actividad. Las muestras obtenidas a las 15 horas tuvieron más actividad que las recolectadas a las 144 horas.

Las hojas nuevas del muérdago mostraron una concentración de sacarosa ligeramente superior a las hojas viejas, en cambio, los valores para la glucosa y fructosa tuvieron concentraciones similares en ambos tipos de hojas.

## 5. DISCUSION

En el curso de la presente investigación se siguió el traslado del carbono  $^{14}$  fijado fotosintéticamente por el follaje de plantas en asociaciones de muérdago y hospedante.

En los casos de las asociaciones estudiadas, los resultados de los análisis radioquímicos y de autoradiografía, indican que no hay traslado de sustancias fotosintetizadas entre el parásito y hospedante y viceversa.

Hull y Leonard (14), en un estudio comparativo del parasitismo de Arceuthobium y Phoradendron, establecieron que existe diferencia en la nutrición de ambos géneros de muérdagos; así, mientras Arceuthobium acumuló en su sistema endofítico y vástago aéreo gran cantidad de material fotosintetizado por su hospedante, Phoradendron falló en mostrar alguna absorción de sustancias portadoras del  $^{14}\text{C}$  desde el tronco del hospedante, comportándose en forma similar a Oryctanthus y Phthirusa en el presente trabajo. Por lo tanto se ha comprobado que existen diferencias en la nutrición de los distintos géneros de muérdagos.

Por las conclusiones de los trabajos de Seledzhanu y Galian-Fabian (21), Rediske y Shea (19) y Hull y Leonard (14), parecen no existir dudas que los muérdagos de los géneros Arceuthobium y Viscum son en parte nutricionalmente dependientes de su hospedante en cuanto a sustancias orgánicas, agua y nutrimentos inorgánicos; pero en cambio el género Phoradendron y de acuerdo a los resultados del presente trabajo, los géneros Phthirusa y

Oryctanthus, no obtienen ni proporcionan sustancias fotosintetizadas a su hospedante por lo menos en escala detectable. Aún cuando la asociación del muérdago es un tipo de parasitismo obligado, éste se reduce grandemente a la obtención de agua y nutrientes inorgánicos del hospedante. De esta forma, la opinión generalizada de que los muérdagos son "parásitos de agua" se podría aplicar a los géneros Phthirusa y Oryctanthus.

De los resultados obtenidos, mediante el análisis radioquímico de la distribución del isótopo en el hospedante, se observa que a las 15 horas después de finalizada la exposición al  $^{14}\text{CO}_2$ , sólo un pequeño porcentaje de los compuestos marcados avanzaron hacia las raíces. Los resultados de las muestras tomadas 144 horas después de aplicar el  $^{14}\text{C}$ , mostraron un traslado y acumulación de la actividad en las raíces del hospedante; si se comparan estos valores con la distribución de la actividad obtenida en una planta no parasitada, se aprecia que los productos fotosintetizados acumulados en las raíces son levemente inferiores en las plantas parasitadas.

Si se tiene en cuenta que hubo una disminución del almacenamiento en las raíces de las plantas parasitadas, las cuales solo tenían una rama infectada, es posible inferir lo que ocurriría a las plantas que tienen muchos parásitos encima. Cada parásito provocaría una pequeña retención del material a transportarse, lo cual en conjunto produciría trastornos fisiológicos que podrían causar la muerte de la planta hospedante.

El hecho de que los muérdagos de los géneros Phthirusa y Oryctanthus realicen fotosíntesis y por lo tanto elaboren las sustancias orgánicas necesarias para sus requerimientos energéticos, sin necesidad de sacarlas de sus hospedantes, sugiere que el parasitismo en sí no es la causa principal de los daños que ocurren. Parece también poco probable que la pérdida de agua y nutrimentos inorgánicos que el muérdago ocasiona al hospedante, sean suficientes para producir los efectos dañinos observados. Según lo planteado por Rediske y Shea (19) en cuanto a la causa del decaimiento de la planta hospedante, parece ser que el sistema endofítico del muérdago provoca una especie de anillamiento en el punto de inserción, lo cual impide un traslado basipetal normal de las sustancias fotosintetizadas; esto tal vez podría explicar los resultados del presente trabajo, en cuanto a la causa del decaimiento de la planta hospedante.

El análisis cromatográfico reveló que el  $^{14}\text{C}$  fue incorporado en los azúcares: sacarosa, fructosa y glucosa. En todos los casos la sacarosa era el azúcar predominante tanto en el hospedante como en las dos especies de muérdagos estudiados, lo que está de acuerdo con resultados de otros investigadores (14, 19).

El hecho de que la sacarosa fuese el azúcar dominante en las muestras colectadas 144 horas después de la aplicación del isótopo, sugiere que este azúcar serviría como carbohidrato de reserva, lo que concuerda con lo propuesto por Zimmermann (30).

Como resultado de todo lo anterior puede indicarse que al ensayar métodos para el control de los parásitos estudiados, debe tenerse en cuenta que no hay traslado de importancia de sustancias elaboradas desde el hospedante al parásito y viceversa.

## 6. CONCLUSIONES

1. En las asociaciones de parásito-hospedante estudiadas no se detectó intercambio de productos fotosintetizados en ningún sentido.
2. Las lorantáceas Phthirusa pyrifolia y Oryctanthus occidentalis no dependen de su hospedante en cuanto a la obtención de productos fotosintetizados.
3. En los hospedantes parasitados hubo interferencia en el transporte basipetal de productos fotosintetizados, resultando levemente inferior al determinado en plantas no parasitadas.
4. El daño ocasionado al hospedante por las muérdagos no sería de tipo nutricional, por lo menos en cuanto a extracción de carbohidratos se refiere, sino que se debería a limitaciones en el movimiento de sustancias dentro del hospedante a causa de alteraciones anatómicas y morfológicas provocadas por el sistema endofítico del parásito en el hospedante.
5. La sacarosa fue el azúcar presente en mayor proporción, tanto en el hospedante como en el parásito.
6. La mayor concentración de productos fotosintetizados por el muérdago fueron probablemente almacenados en sus hojas nuevas.

## 7. RESUMEN

Se estudió el transporte de compuestos fotosintetizados en la asociación de las lorantáceas Phthirusa pyrifolia y Oryctanthus occidentalis, parasitando los hospedantes Acalypha wilkesiana e Hibiscus rosa-sinensis.

Los tratamientos consistieron en exponer al  $^{14}\text{CO}_2$  el follaje terminal del muérdago y muestrear el hospedante; como también exponer al isótopo el follaje del hospedante y muestrear el parásito.

En ambos casos se cogieron muestras a las 15 y 144 horas después de la exposición al isótopo.

La distribución de los carbohidratos marcados, formados en el proceso fotosintético se detectó por análisis radioquímico y autoradiografía.

Los dos géneros de lorantáceas estudiados tuvieron un comportamiento similar, pues en las asociaciones con sus hospedantes no se detectó intercambio de productos fotosintetizados en ningún sentido. Según esto las lorantáceas Phthirusa pyrifolia y Oryctanthus occidentalis no dependían de sus hospedantes en cuanto a la obtención de productos fotosintetizados se refiere.

Para establecer en que forma influye el sistema endofítico del parásito en la distribución de los productos fotosintetizados en el hospedante, se cogieron muestras de hojas y tallos ubicados sobre el punto de inserción del parásito, del tallo ubicado por abajo de la inserción, y de las raíces del hospedante.



Los valores obtenidos de estas muestras se compararon con valores tomados de muestras de plantas que no estaban infestadas, determinándose que el transporte basipetal de productos fotosintetizados fue levemente inferior en las plantas parasitadas.

Así, parece ser que el mayor daño que los muérdagos causan a sus hospedantes, sería debido a las alteraciones anatómicas y morfológicas que provocan, y que inciden en una alteración del traslado basipetal normal de sustancias fotosintetizadas.

Los carbohidratos que se trasladan en los hospedantes fueron determinados cromatográficamente y correspondieron a sacarosa, glucosa y fructosa. La sacarosa fue el azúcar presente en mayor proporción en los hospedantes y en los parásitos.

7a. SUMMARY

The transport of photosynthetized components was studied in associations consistens of the Loranthaceae Phthirusa pyrifolia and Oryctanthus occidentalis, parasiting on the hosts Acalypha wilkesiana and Hibiscus rosa-sinensis.

The treatments consisted in exposing the terminal foliage of the mistletoes to  $^{14}\text{CO}_2$  and sampling the host; similarly, exposing the host's foliage to the isotope and sampling the parasite.

In both cases, samples were taken at 15 and 144 hours after exposure to the isotope.

The distribution of the radioactive carbohydrates formed in the photosynthetic process was detected by radiochemical analysis and autoradiography.

The two genera of Loranthaceae studied had a similar behavior, since in their associations with the hosts no interchange of the photosynthesized product was detected in any way. According to this, the Loranthaceae Phthirusa pyrifolia and Oryctanthus occidentalis do not depend upon their hosts as far as obtaining photosynthetized products is concerned.

In order to establish the manner in which the endophytic system of the parasite influences the distribution of the photosynthetized products in the host, samples were taken of the leaves and stems located above the insertion point of the parasite, the stem located below this point and the roots of the host.

The results derived from these samples were compared with the ones obtained from samples of non-infested plants, determining that the basipetal transport of photosynthetized products was slightly inferior in the parasitical plants.

Thus, it seems that the greatest damage that mistletoes cause on their host would be due to the anatomical and morphological alterations which they bring about and which cause a disturbance of the normal basipetal transport of the photosynthetized substances.

The carbohydrates which are transported in the hosts were determined by chromatography and corresponded to saccharose, glucose and fructose. Saccharose was the sugar present in great er proportions in the hosts and in their parasites.

8. LITERATURA CITADA

1. ANDERSON, R. L. y KAUFERT, F. H. Brooming responses of black spruce to dwarfmistletoe infection. *Forest Science* 5(4):356-364. 1959.
2. COHEN, L. I. The anatomy of the endophytic system of the dwarf mistletoe Arceuthobium campylopodum. *American Journal of Botany* 41(10):840-847. 1954.
3. \_\_\_\_\_. Studies on the ontogeny of the dwarfmistletoe, Arceuthobium. II Homology of the endophytic system. *American Journal of Botany* 50(5):409-414. 1963.
4. CRAFTS, A. S. y YAMAGUCHI, S. The autoradiography of plant materials. Davis, California Agricultural Experiment Station Service, 1964. 143 p.
5. DUFRENOY, J. The parasitism of Arceuthobium (Razoumowsky) compylopodum on Pinus jeffreyi. *Phytopathology* 26(1):57-61. 1936.
6. ECHANDI, Z. R. Las Loranthaceae que parasitan el laurel, (Cordia alliodora R. et Pav.) Cham. en Costa Rica y sus posibilidades de control con inyecciones de hierbidas al tronco del huésped. Tesis Mag. Agr. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1958. 40 p. (Mimeo).
7. EL KHADEM, H. y HANESSIAN, S. Ammonium molybdate as spraying agent for paper chromatograms of reducing sugars. *Analytical Chemistry* 30(12):1965. 1958.
8. FONT QUER, F. Diccionario de botánica. Barcelona, Labor, 1963. 1244 p.
9. FREELAND, R. O. The american mistletoe with respect to chlorophyll and photosynthesis. *Plant Physiology* 18(2):299-302. 1943.
10. GIL, L. S. y HAWKSWORTH, F. G. The mistlotoes. US. Department of Agriculture. Technical Bulletin no. 1242. 1961. 87 p.
11. HAWKSWORTH, F. G. Dwarfmistletoe of ponderosa pine in the south west. US. Department of Agriculture. Technical Bulletin no. 1246. 1961. 112 p.

12. HEDGCOCK, G. C. Notes on some diseases of trees in our national forests. *Phytopathology* 5(3):175-181. 1915.
13. HOAGLAND, D. R. y ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. Circular no. 347. 1938. 32 p.
14. HULL, R. J. y LEONARD, O. A. Physiological aspects of parasitism in mistletoe (Arceuthobium and Phoradendron). I. The carbohydrate nutrition of mistletoe. *Plant Physiology* 36(6):996-1007. 1964.
15. INMAN, R. E. Carbohydrate levels in rust infected bean plants. Ph.D. Thesis. Lincoln, University of Nebraska, 1961. 43 p. (Mimeo).
16. KORSTIAN, C. F. y LONG, W. H. The western yellow pine mistletoe effect on growth and suggestions for control. US. Department of Agriculture. Bulletin no. 1112. 1922. 36 p.
17. KUIJT, J. Dwarf mistletoes. *Botanical Review* 21(10): 569-627. 1955.
18. MATTE, H. V. Algunos aspectos biológicos del parasitismo en lorantáceas tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1966. 90 p. (Mimeo).
19. REDISKE, J. H. y SHEA, K. R. The production and translocation of photosynthate in dwarfmistletoe and lodgepole pine. *American Journal of Botany* 48(6):447-452. 1961.
20. SCHOLANDER, P. F. Sap pressure in vascular plant. Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148(3668):339-346. 1965.
21. SELEDZHANU, N. y GALIAN FABIAN, D. Nutrition of common mistletoe. *Fisiologiya Rastanii* 8(5):547-554. 1961. (Original no consultado; citado en Matte, H. V. Algunos aspectos biológicos del parasitismo en lorantáceas tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1966. 90 p. (Mimeo)).

22. SRIVASTAVA, L. V. y ESAU, K. Relation of dwarfmistletoe Arceuthobium to the xylem tissue of conifers. I. Anatomy of parasite sinkers and their connection with host xylem. American Journal of Botany 48(2):159-167. 1961.
23. STANDLEY, P. C. Flora of Costa Rica. Chicago Field Museum of Natural History, 1937. v. 18. pp. 402-408.
24. THODAY, D. y JOHNSON, E. T. On Arceuthobium pusillum Peck. I. The endophytic system. Annals of Botany 44:393-413. 1930. (Original no consultado; citado en Hull, R. J. y Leonard, D. A. Physiological aspects of parasitism in mistletoe (Arceuthobium and Phoradendron). I. The carbohydrate nutrition of mistletoe. Plant Physiology 36(6):996-1007. 1964).
25. VALDIVIA, S. J. DE J. El muérdago enano Arceuthobium sp. en los bosques de la zona noreste de Michoacán. Tesis Ing. Agr. Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, 1963. 59 p. (Mimeo).
26. VARESCHI, V. y PANNIER, F. Sobre la economía de agua de lorantáceas tropicales en su ambiente natural. Acta Biológica Venezuéllica 1(10):159-179. 1953.
27. WAGENER, W. W. Mistletoe in the lower bole in incense cedar. Phytopathology 15(10):614-616. 1925.
28. WEIR, J. R. Mistletoe injury to conifers in the northwest. US. Department of Agriculture. Bulletin no. 360. 1916. 39 p.
29. WIGGINS, L. F. y WILLIAMS, J. H. Use of n-butanol-formic acid-water mixture in the paper chromatography of amino-acids and sugars. Nature 170(4320):279-280. 1952.
30. ZIMMERMANN, M. H. Translocation of organic substances in the phloem of trees. In Thimann, K., ed. The physiology of forest trees. New York, Ronald Press, 1958. pp. 381-400.

A P E N D I C E

Cuadro 1. Datos meteorológicos registrados en la Estación del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica.

(Elevación 602 metros, latitud 9°53' N, longitud 83°38'W)

| Datos de:               | Julio                     | Agosto                   | Septiembre                | Octubre                  | Noviembre                 | Diciembre                 |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <u>TEMPERATURA</u>      |                           |                          |                           |                          |                           |                           |
| Media                   | 21,9°C                    | 21,7°C                   | 21,8°C                    | 21,9°C                   | 20,5°C                    | 20,3°C                    |
| Promedio de los máximos | 27,3°C                    | 27,1°C                   | 27,3°C                    | 27,4°C                   | 25,1°C                    | 24,2°C                    |
| Promedio de los mínimos | 18,9°C                    | 18,4°C                   | 18,4°C                    | 18,4°C                   | 17,6°C                    | 18,1°C                    |
| Máxima absoluta         | 29,1°C                    | 29,7°C                   | 28,5°C                    | 28,5°C                   | 28,8°C                    | 27,6°C                    |
| Mínima absoluta         | 17,0°C                    | 16,3°C                   | 16,5°C                    | 16,8°C                   | 13,7°C                    | 15,8°C                    |
| <u>PRECIPITACION</u>    |                           |                          |                           |                          |                           |                           |
| Total mensual           | 218,0mm                   | 297,0mm                  | 329,9mm                   | 129,6mm                  | 391,9mm                   | 1.249,0mm                 |
| Días con 0,1 ó más      | 29                        | 29                       | 27                        | 23                       | 24                        | 29                        |
| Máximo por día          | 76,5mm                    | 48,3mm                   | 89,6mm                    | 27,9mm                   | 115,3mm                   | 248,8mm                   |
| <u>RADIACION</u>        |                           |                          |                           |                          |                           |                           |
| Promedio diario         | 448,16cal/cm <sup>2</sup> | 437,7cal/cm <sup>2</sup> | 477,90cal/cm <sup>2</sup> | 489,6cal/cm <sup>2</sup> | 375,20cal/cm <sup>2</sup> | 284,61cal/cm <sup>2</sup> |
| <u>HUMEDAD RELATIVA</u> |                           |                          |                           |                          |                           |                           |
| Promedio diario         | 86,6%                     | 87,7%                    | 88,0%                     | 87,5%                    | 89,6%                     | 91,8%                     |
| Promedio de las mínimas | 55,6%                     | 56,9%                    | 57,4%                     | 57,3%                    | 62,5%                     | 70,2%                     |
| Mínima absoluta         | 42 %                      | 44 %                     | 45 %                      | 44 %                     | 43 %                      | 51 %                      |