

## CONTENIDO MINERAL Y DE CLOROFILA DE LA HEMIPARÁSITA *Psittacanthus calyculatus* (DC) G. Don Y DE CUATRO DE SUS ÁRBOLES HOSPEDEROS

MINERAL AND CHLOROPHYLL CONTENT OF THE *Psittacanthus calyculatus* (DC) G. Don HEMIPARASITIC PLANT AND FOUR HOST TREES

J. Carlos Raya-Pérez; J. Gabriel Ramírez-Pimentel; Jorge Covarrubias-Prieto; Bryan Acevedo-Lara; César Aguirre-Mancilla\*.

División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Roque. km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas. C. P. 38110. Celaya, Guanajuato, MÉXICO.

Correo-e: cesar.aguirre.m@gmail.com Tel.: 461 6115903 ext. 135 (\*Autor para correspondencia).

### RESUMEN

Se colectaron hojas de la planta hemiparásita *Psittacanthus calyculatus* y de sus árboles hospederos *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* y *Prosopis laevigata*, con el objetivo de conocer y comparar los contenidos de Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, clorofila y proteína. Los análisis se realizaron con un microscopio electrónico de barrido (SEM) equipado con una sonda dispersiva de rayos X (EDS). Los resultados mostraron que la hemiparásita acumuló más K (al menos dos veces más) que sus hospederos, lo que indica que usa un mecanismo activo para lograr esta acumulación. De acuerdo con el análisis estadístico ( $P = 0.05$ ), *U. divaricate* es la especie que acumula más S, Si y Ca. El contenido de Mg también fue mayor en *U. divaricate*, pero fue estadísticamente similar ( $P = 0.05$ ) que en la hemiparásita. El contenido de P fue similar ( $P = 0.05$ ) tanto en *P. calyculatus* como en sus hospederos. *Fraxinus uhdei* acumuló más C que el resto de las especies. El contenido de clorofila fue mayor en *F. uhdei* y *S. taxifolia*, mientras que *P. laevigata* tuvo el contenido más bajo. Las hojas de *P. calyculatus* tuvieron alto contenido de proteína (21 %).

PALABRAS CLAVE: Flujo transpiracional, composición mineral, estomas, nutrición mineral.

### ABSTRACT

We collected leaves from the *Psittacanthus calyculatus* hemiparasitic plant and *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* y *Prosopis laevigata* host trees, to understand and compare the contents of Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, chlorophyll and protein. Analyses were performed with a scanning electron microscope (SEM) equipped with an energy dispersive X-ray spectrometer (EDS). The results showed that the hemiparasitic plant accumulated (at least twice) more K compared to its host trees, indicating that the hemiparasitic plant use an active mechanism to achieve this accumulation. According to the statistical analysis ( $P = 0.05$ ), *U. divaricate* is the species that accumulates more S, Si and Ca. Mg content was also higher in *U. divaricate*, but was statistically similar ( $P = 0.05$ ) than in the hemiparasitic plant. P content was similar ( $P = 0.05$ ) in both *P. calyculatus* and their host trees. *Fraxinus uhdei* accumulated more C than the rest of the species. Chlorophyll content was higher in *F. uhdei* and *S. taxifolia*, while *P. laevigata* had the lowest content. *P. calyculatus* leaves had high protein content (21 %).

KEYWORDS: Transpirational flow, mineral composition, stomata, mineral nutrition.



Recibido: 05 de junio, 2013  
Aceptado: 20 de febrero, 2014  
doi: 10.5154/r.rchscfa.2013.06.017  
<http://www.chapingo.mx/revistas>

## INTRODUCCIÓN

Las plantas parásitas y hemiparásitas alteran la competencia entre las especies, lo cual ocasiona cambios en la estructura y diversidad de la comunidad, así como en la disponibilidad de recursos o en las interacciones planta-polinizador y planta-herbívoro, afectando a los dispersores de semillas. Por esto, las plantas parásitas y hemiparásitas son consideradas especies clave dentro de los ecosistemas ejerciendo una gran influencia dentro de la comunidad, independientemente de la abundancia o biomasa. El muérdago es un caso importante de parasitismo ya que ocasiona una baja en la productividad, disminuyendo el crecimiento de su hospedero hasta 65 % (Press, Shah, Tuohy, & Stewart, 1987); a su vez, la dominancia de la especie se reduce, permitiendo que especies secundarias lleguen a ser dominantes, incluso pueden causar la muerte del hospedero (Press & Phoenix, 2005). Las plantas parásitas tienen un papel muy relevante en los ecosistemas, por encima de la abundancia o producción de materia seca. En el caso de los muérdagos, en particular, se ha levantado la voz de alarma por el daño grave que están causando a los árboles del entorno urbano. La contribución al conocimiento de estas plantas es necesaria en todas las disciplinas a fin de encontrar la manera de controlarlas y, por qué no, de aprovecharlas.

El conocimiento de la composición mineral de las plantas es importante por varias razones; para saber las necesidades nutrimentales de los cultivos, recuperar los suelos agotados y contaminados con el uso de plantas bioacumuladoras de metales, así como para mejorar la dieta humana y animal con base en la disponibilidad de minerales y otros compuestos. La composición mineral se ha investigado en cultivos anuales de interés antropocéntrico, principalmente sobre herbáceas y poco sobre árboles, a fin de suplir los elementos faltantes o en deficiencia. Es importante incluir elementos considerados no significativos en la nutrición y fisiología vegetal, como el silicio (Si). Se conoce que el N, P y K deben estar a disposición de la planta de manera permanente para lograr un buen desarrollo. El P es un elemento con escasa movilidad en el suelo, pero dentro de la planta puede ser removido, vía simplástica, desde las partes más viejas hacia las más jóvenes. Por otra parte, se ha determinado que el K puede constituir hasta 8 % del peso seco de la planta, elemento que, además, es muy importante como soluto, mientras que el Si puede constituir hasta 10 % del peso seco en algunas especies como el arroz (Epstein, 1994). El Ca es abundante en la litosfera, pero la percolación puede ocasionar deficiencias; en la planta tiende a ser almacenado en la vacuola. Las plantas parásitas como *Cuscuta* spp. son capaces de acumular grandes cantidades de Na y K que actúan como osmolitos para atraer agua y sales minerales desde la planta huésped (Kelly & Horning, 1999; Press et al., 1987; Press & Phoenix, 2005). Las plantas hemiparásitas, tales como *Striga hermonthica* (Del.) Benth. mantienen los estomas abiertos aun en la oscuridad, y bajo estrés hídrico mantienen mayor concentración de K en las hojas, lo que da por resultado

## INTRODUCTION

Parasitic and hemiparasitic plants disturb the competition among species, provoking changes in the structure and diversity of the community as well as the availability of resources or plant-pollinator and plant-herbivore interactions affecting seed dispersers. Therefore, parasitic and hemiparasitic plants are considered key species within ecosystems performing a great influence in the community, regardless of the abundance or biomass. Mistletoe is a major case of parasitism because it provokes a drop in productivity, decreasing the growth of its host up to 65 % (Press, Shah, Tuohy, & Stewart, 1987); in turn, the dominance of the species is reduced allowing secondary species to become dominant, they can even cause the death of the host (Press & Phoenix, 2005). Parasitic plants have a very important role in ecosystems, above abundance or dry matter production. In the case of mistletoes, in particular, there is an alert due to the serious damage they are causing to trees in the urban environment. The contribution to the knowledge of these plants is necessary in all disciplines to find ways to control them and, or even, to take advantage.

Knowledge of the mineral composition of plants is important for several reasons: to know the nutritional needs of crops, recover depleted and contaminated soils using metal bioaccumulating plants, and to improve human and animal diet based on the availability of minerals and other compounds. Mineral composition has been studied in annual crops of anthropocentric interest, mainly on grasses and little on trees, for the purpose of replacing the missing or deficient items. It is important to include no significant elements considered in nutrition and plant physiology, such as silicon (Si). It is known that N, P and K should be available to the plant permanently for a good development. Phosphorus is an element with low mobility in soil, but in the plant can be removed, via symplastic, from older to younger parts. Moreover, it has been determined that K may constitute up to 8 % of the dry weight of the plant, element that is very important as a solute, while Si may constitute up to 10 % dry weight in some species such as rice (Epstein, 1994). Calcium is abundant in the lithosphere, but percolation can provoke deficiencies; plants tend to storage Ca in the vacuole. Parasitic plants such as *Cuscuta* spp. are able to accumulate large amounts of Na and K that act as osmolytes to attract water and minerals from the host plant (Kelly & Horning, 1999; Press et al., 1987; Press & Phoenix, 2005). Hemiparasitic plants such as *Striga hermonthica* (Del.) Benth. keep the stomata open even in the dark, and under water stress maintain higher concentration of K in leaves, which results in an increase in transpiration rate (Smith & Stewart, 1990). Moreover, parasitic plants can have interesting features such as high efficiency in the use of Fe and performing photosynthesis under saline conditions (Llugany, Lombini, Dinelli, Poschenrieder, & Barceló, 2009). To understand the mechanisms that control the homeostasis of Fe in plants is crucial to improve the yield in alkaline soils, which generally there is lack of this mineral (Hänsch & Mendel, 2009).

un incremento en la tasa transpiratoria (Smith & Stewart, 1990). Además, las plantas parásitas pueden tener características interesantes como gran eficiencia en el uso de Fe y realización de la fotosíntesis bajo condiciones de salinidad (Llugany, Lombini, Dinelli, Poschenrieder, & Barceló, 2009). Conocer los mecanismos que controlan la homeostasis del Fe en las plantas es crucial para mejorar el rendimiento en suelos alcalinos, donde generalmente se presenta escasez de este mineral (Hänsch & Mendel, 2009).

*Psittacanthus calyculatus* (DC) G. Don es una especie hemiparásita que frecuentemente crece a expensas de árboles como *Salix* spp., *Ulmus* spp., *Fraxinus* spp. y *Prosopis* spp., causando serios daños e incluso la muerte en zonas donde ya quedan pocos árboles, como es el caso de “El Bajío Guanajuatense”. En las áreas urbanas, el problema aparentemente se agrava pues aumenta el número de árboles invadidos, quizá debido a la presencia de gran número de pájaros que transportan las semillas pegajosas que se adhieren a los árboles, donde germinan rápidamente. El ciclo de vida de *Psittacanthus* y su impacto sobre las coníferas en México ha sido también objeto de estudio (Clark-Tapia et al., 2011; Press & Phoenix, 2005; Vázquez-Collazo & Geils, 2002). Algunas plantas causan pérdidas considerables en la agricultura, como *Striga* spp. que parasita al sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench.) o el muérdago enano que parasita pinos (Kelly & Horning, 1999).

En México, la presencia de plantas hemiparásitas es conspicua y la muerte de árboles a causa de infestaciones severas es notoria. La poda de las ramas afectadas se recomienda para evitar el crecimiento de las parásitas. El estudio de estas plantas a nivel bioquímico y molecular puede dar resultados interesantes tanto desde el punto de vista de la generación de conocimientos como para su control. Se han reportado estudios sobre la composición de herbáceas y árboles por su utilidad como forrajeras, destacando la hemiparásita *P. calyculatus* muy utilizada como alimento para el ganado caprino (Aizpuru & Catalán-Rodríguez, 1985; Clark-Tapia et al., 2011); en la medicina tradicional se emplea para tratar afecciones de la piel y otras enfermedades, por lo cual se ha estudiado la presencia de metabolitos secundarios en sus hojas (Moustapha, Gutiérrez-Avella, Fuentes-Ordaz, Castañeda-Moreno, & Martínez, 2011). El objetivo de este trabajo fue investigar los contenidos de Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, proteína y clorofila en el follaje de la planta hemiparásita *P. calyculatus* y de sus árboles hospederos *Salix taxifolia* Kunth, *Ulmus divaricate* CH Muell., *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh. y *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd) para compararlos entre ellos y establecer posibles relaciones en función de las cantidades encontradas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cuantificación de minerales

Las hojas de *P. calyculatus* y de sus árboles hospederos *S. taxifolia*, *U. divaricate*, *F. uhdei* y *P. laevigata*, adultos y con

*Psittacanthus calyculatus* (DC) G. Don is a hemiparasitic species that often grows at the expense of trees such as *Salix* spp., *Ulmus* spp., *Fraxinus* spp. and *Prosopis* spp., causing serious damage and even death in areas where there are few trees already, such as “El Bajío Guanajuatense”. In urban areas, the problem is apparently compounded because the number of invaded trees increases, perhaps due to the presence of large numbers of birds carrying the sticky seeds that stick to the trees, germinating quickly. The lifecycle of *Psittacanthus* and the impact on conifers in Mexico has also been studied (Clark-Tapia et al., 2011; Press & Phoenix, 2005; Vázquez-Collazo & Geils, 2002). Some plants cause considerable losses in agriculture, such as *Striga* spp. that parasitizes sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench.) or dwarf mistletoe that parasitizes pines (Kelly & Horning, 1999).

In Mexico, the presence of hemiparasitic plants is conspicuous and the death of trees due to severe infestations is notary. We recommend pruning the affected branches to prevent the growth of parasites. The study of these plants at the biochemical and molecular level can provide interesting results both to generate knowledge and control. Studies on the composition of grasses and trees as fodder for their utility have been reported, highlighting the *P. calyculatus* hemiparasitic plant widely used as feed for goat (Aizpuru & Catalán-Rodríguez, 1985; Clark-Tapia et al., 2011); in traditional medicine this plant is used to treat skin disorders and other diseases, for this reason the presence of secondary metabolites in leaves has been studied (Moustapha, Gutiérrez-Avella, Fuentes-Ordaz, Castañeda-Moreno, & Martínez, 2011). The aim of this work was to study the contents of Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, **protein and chlorophyll in the foliage of the hemiparasitic plant *P. calyculatus*** and their host trees *Salix taxifolia* Kunth, *Ulmus divaricate* CH Muell., *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh and *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd) to compare them and to establish possible relationships based on the amounts found.

## MATERIALS AND METHODS

### Quantifying minerals

The leaves of *P. calyculatus* and their host trees *S. taxifolia*, *U. divaricate*, *F. uhdei* and *P. laevigata*, apparently healthy adults, we collected (50 g each) in two years (2008 and 2009) at the end of the rainy season in the CINVESTAV-Irapuato Unit, Mexico (20° 40' 18'' N, 101° 20' 48'' W; humid temperate climate, altitude 1,730 m). The leaves were dried in a convection oven (model H62, Mexico) at 60 °C for 48 h, these leaves were ground in a blender and then in a ball mill (RETSCH MM 301, Germany) to obtain a particle size of 5 µm and develop pills of 0.5 cm diameter in a hydraulic press (CARVER 3853-0, USA). The analysis was made with a scanning electron microscope (JEOL JSM-6480LV, Japan) coupled to an energy dispersive X-ray spectroscope (INCAx-sight Oxford Instruments, UK) following the manufacturer's suggested procedure. The quantified ele-

apariciencia sana, se colectaron (50 g de cada uno) en dos años (2008 y 2009) al final de la estación lluviosa en el CINVESTAV-Unidad Irapuato, México (20° 40' 18'' N, 101° 20' 48'' O; clima subhúmedo templado; 1,730 m). Las hojas se secaron en un horno de convección (modelo H62, México) a 60 °C por 48 h, se molieron en una licuadora y luego en un molino de bolas (RETSCH MM 301, Alemania) para obtener un tamaño de partícula de 5 µm y elaborar pastillas de 0.5 cm de diámetro en una prensa hidráulica (CARVER 3853-0, Estados Unidos). El análisis se hizo con un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6480LV, Japón) acoplado a una sonda dispersiva de rayos X (INCAx-sight Oxford Instruments, Reino Unido) siguiendo el procedimiento sugerido por el fabricante. Los elementos cuantificados fueron C, O, Mg, Al, Si, P, S, K y Ca (Liu, Kottke, & Adam, 2007; Raya-Pérez & Aguirre-Mancilla, 2009); se hicieron al menos seis análisis por muestra.

### Cuantificación de clorofila

Dado que las hemiparásitas dependen de su hospedero para la obtención de agua y minerales, se cuantificó la clorofila de *P. calyculatus* y de sus árboles hospederos *S. taxifolia*, *U. divaricate*, *F. uhdei* y *P. laevigata* usando el método de Arnon (1949). Para ello, se tomaron las hojas de los árboles respectivos, se colocaron en hielo bajo condiciones de oscuridad y se trasladaron al laboratorio de Bioenergética y Biomembranas del CINVESTAV-Irapuato. Se cortaron círculos de 0.7 cm de diámetro con un sacabocados y se molieron en un mortero, agregando 3 mL de acetona fría al 80 % (v/v). La mezcla resultante se depositó en tubos que se centrifugaron a 3,000 rpm. El sobrenadante se leyó a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro Beckman DU 640 (Estados Unidos). El contenido de clorofilas se obtuvo de acuerdo con lo siguiente:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila a: } & 12.7 \times A_{663} - 2.7 \times A_{645} \\ \text{Clorofila b: } & 22.9 \times A_{645} - 4.7 \times A_{663} \end{aligned}$$

La proteína se cuantificó, por duplicado, determinando N total de la hemiparásita utilizando el método Kjeldhal (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 1990).

### Análisis estadístico

Los datos del contenido mineral y clorofila de la hemiparásita y los cuatro hospederos se analizaron mediante un diseño completamente al azar con ocho repeticiones para *P. laevigata* y seis repeticiones para el resto de las especies. La comparación de medias se realizó mediante la prueba DMS ( $P = 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete SAS 9.0 (Statistical Analysis System [SAS], 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido mineral en *P. calyculatus* y sus hospederos

El análisis de varianza mostró que el contenido mineral de las hojas de las especies presenta diferencias altamente sig-

nificantes were C, O, Mg, Al, Si, P, S, K and Ca (Liu, Kottke, & Adam, 2007; Raya-Pérez & Aguirre-Mancilla, 2009); at least six analyzes per sample were performed.

### Quantifying chlorophyll

Since the hemiparasitic plants depend on the host to obtain water and minerals, we quantified the chlorophyll of *P. calyculatus* and their host trees *S. taxifolia*, *U. divaricate*, *F. uhdei* and *P. laevigata* using the method of Arnon (1949). For this reason, the leaves of the respective trees were collected, placed on ice under dark conditions and transferred to the laboratory of Bioenergetics and Biomembranes of CINVESTAV-Irapuato. Circles of 0.7 cm diameter were cut using a punch and ground in a mortar, adding 3 mL of cold acetone at 80 % (v/v). The mixture was poured in tubes that were centrifuged at 3,000 rpm. The supernatant was read at 645 and 663 nm using a spectrophotometer Beckman DU 640 (USA). The chlorophyll content was obtained according to the following:

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll a: } & 12.7 \times A_{663} - 2.7 \times A_{645} \\ \text{Chlorophyll b: } & 22.9 \times A_{645} - 4.7 \times A_{663} \end{aligned}$$

The protein was quantified in duplicate, determining total N of the hemiparasitic plant using the Kjeldahl method (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 1990).

### Statistical analysis

Mineral content data and chlorophyll of the hemiparasitic plant and the four hosts were analyzed using a completely random design with eight replications for *P. laevigata* and six repetitions for the remaining species. The mean comparison test was performed using the LSD test ( $P = 0.05$ ). Statistical analyzes were performed using the software SAS 9.0 (Statistical Analysis System [SAS], 2002).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Mineral content in *P. calyculatus* and hosts

The analysis of variance showed that the mineral content of the leaves of the species has highly significant differences ( $P = 0.01$ ) (Table 1). Table 2 shows the mean comparison of the mineral content of the leaves of the five species.

Mg content was statistically similar ( $P = 0.05$ ) in *P. calyculatus* and *U. divaricate* and higher than in *S. taxifolia*, *P. laevigata* and *F. uhdei*. Al content was similar ( $P = 0.05$ ) in *F. uhdei*, *P. laevigata* and *S. taxifolia*. *U. divaricate* and *P. calyculatus* were the species with the lowest content (Table 2). This feature is interesting to study the mechanism used to the exclusion of Al. Llugany et al. (2009) reported that at high concentration of Zn in soil, this element is more efficiently absorbed and mobilized through the leaves of the host tree (*Cistus* spp.) and the parasitic plant (*Odon-*

CUADRO 1. Análisis de varianza del contenido mineral de las hojas de la hemiparásita *Psittacanthus calyculatus* y de sus hospederos *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* y *Prosopis laevigata*.

TABLE 1. Analysis of variance of the mineral content of leaves of the hemiparasitic plant *Psittacanthus calyculatus* and their hosts *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* and *Prosopis laevigata*.

FV/ SV	gl / DF	Cuadrados medios / Mean Squares								
		C	O	Mg	Al	Si	P	S	K	Ca
Especie / Species	4	29.159**	11.129*	0.047**	0.007**	0.066**	0.007 <sup>ns</sup>	1.067**	0.862*	1.989**
Error	27	2.836	3.215	0.003	0.001	0.016	0.005	0.055	0.318	0.068

FV: Fuente de variación; gl: Grados de libertad. / SV: Source of variation; DF: Degrees of freedom.

\*Significancia estadística  $P = 0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P = 0.01$ ; <sup>ns</sup>No significativo. / \*Statistical significance  $P = 0.05$ ; \*\* Statistical significance  $P = 0.01$ ;

<sup>ns</sup>No significant.

nificativas ( $P = 0.01$ ) (Cuadro 1). En el Cuadro 2 se muestra la comparación de medias del contenido mineral de las hojas de las cinco especies.

El contenido de Mg fue estadísticamente similar ( $P = 0.05$ ) en *P. calyculatus* y *U. divaricate*, y mayor que en *S. taxifolia*, *P. laevigata* y *F. uhdei*. El contenido de Al fue similar ( $P = 0.05$ ) en *F. uhdei*, *P. laevigata* y *S. taxifolia*, siendo *U. divaricate* y *P. calyculatus* las especies que absorbieron menos este elemento (Cuadro 2). Esta característica es interesante a fin de estudiar el mecanismo usado para la exclusión de Al. Llugany et al. (2009) reportaron que a altas concentraciones de Zn en el suelo, este elemento es absorbido y movilizado más eficientemente a través de las hojas del hospedero (*Cistus* spp.) y de la planta parásita (*Odontites lutea* [L.] Clairv.); sin embargo, esto no ocurre en el caso del Al, ya que *Psittacanthus* no acumula este metal a las concentraciones que alcanza en sus hospederos. El Si fue absorbido más eficientemente por *U. divaricate* y *F. uhdei*, mientras que *P. calyculatus* tiene niveles estadísticamente similares ( $P = 0.05$ ) al resto de sus hospederos (Cuadro 2). Estos resultados indican que *U. divaricate* podría ser un buen candidato para estudiar la acumulación de silicio. En cuanto al P, no se obtuvieron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre la hemiparásita y sus

*tites lutea* [L.] Clairv.); however, this is not the case for Al, because *Psittacanthus* does not accumulate this metal compared to the concentrations reached by their hosts. Si was absorbed more efficiently by *U. divaricate* y *F. uhdei*, while *P. calyculatus* has statistically similar levels ( $P = 0.05$ ) to the rest of their hosts (Table 2). These results indicate that *U. divaricate* could be a good candidate to study the accumulation of silicon. Regarding P, no significant differences ( $P > 0.05$ ) between the host and the hemiparasitic plant were obtained. S was more efficiently absorbed by *U. divaricate*, followed by *P. calyculatus*. K was the mineral accumulated more efficiently by the hemiparasitic plant but also by *S. taxifolia* (Table 2).

The accumulation of minerals is a characteristic with hereditary components and therefore we can be observed similar concentrations between plants of the same genus or family. However, the influence of the environment acts in such a way that when analyzing samples of plants of the same genus or family, grown in different locations, it is also possible to find differences in mineral content. For example, *Salix* accumulates Ca, Fe and Zn; however, *Populus* shows a higher content of Mg (Broadley et al., 2008; Carou, De Loof, Casaubon, González, & Dallorso, 2010).

CUADRO 2. Comparación de medias del contenido mineral de las hojas de la hemiparásita *Psittacanthus calyculatus* y de sus cuatro hospederos.

TABLE 2. Comparison of means of the mineral content of leaves of the hemiparasitic plant *Psittacanthus calyculatus* and its four hosts.

Especies / Species	Contenido mineral (% peso) / Mineral content (% weight)								
	C	O	Mg	Al	Si	P	S	K	Ca
<i>Fraxinus uhdei</i>	55.29 a	43.01 b	0.11 c	0.09 a	0.31 ab	0.11 ns	0.10 c	0.70 b	0.20 d
<i>Prosopis laevigata</i> *	52.24 bc	43.97 b	0.09 c	0.07 ab	0.14 c	0.06 ns	0.10 c	0.67 b	0.29 cd
<i>Salix taxifolia</i>	52.91 b	44.82 ab	0.19 b	0.09 a	0.12 c	0.13 ns	0.19 bc	0.83 ab	0.55 c
<i>Ulmus divaricate</i>	50.45 cd	43.03 b	0.29 a	0.02 c	0.35 a	0.12 ns	1.09 a	0.58 b	1.61 a
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	49.72 d	46.23 a	0.27 a	0.03 bc	0.16 bc	0.08 ns	0.45 b	1.50 a	0.91 b

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS,  $P = 0.05$ ,  $n = 6$ ) / Means with the same letter are statistically equal (LSD,  $P = 0.05$ ,  $n = 6$ )

\**P. laevigata* ( $n = 8$ ) / \**P. laevigata* ( $n = 8$ )

hospederos. El S fue absorbido más eficientemente por *U. divaricate*, seguido de *P. calyculatus*. El K fue el mineral acumulado más eficientemente por la hemiparásita pero también por *S. taxifolia* (Cuadro 2).

La acumulación de minerales es una característica con componentes hereditarios y, por tanto, se pueden observar concentraciones similares entre plantas del mismo género o familia. Sin embargo, la influencia del medio actúa de tal manera que al analizar muestras de plantas del mismo género o familia, crecidas en localidades distintas, también es posible encontrar diferencias en el contenido mineral. Por ejemplo, *Salix* acumula Ca, Fe y Zn, en cambio *Populus* muestra un mayor contenido de Mg (Broadley et al., 2008; Carou, De Loof, Casaubon, González, & Dallorso, 2010).

El Ca fue absorbido a altos niveles por *U. divaricate* y *P. calyculatus* (Cuadro 2) a diferencia de la hemiparásita *Odontites* spp. que tiende a acumularlo menos que sus hospederos (Llugany et al., 2009), a pesar de las altas tasas transpiratorias de las parásitas y hemiparásitas (Smith & Stewart, 1990; Kelly & Horning, 1999). Las tasas transpiratorias son logradas a través de la acumulación de solutos, como el K, en las células estomáticas (Smith & Stewart, 1990). Se ha postulado que si el Si siguiera el flujo transpiratorio, este elemento podría ser acumulado a altos niveles en las hojas de las hemiparásitas, más que en las de sus plantas hospederas (Baxter, 2009; Motomura, Fujii, & Susuki, 2006; Smith & Stewart, 1990). La disminución del flujo transpiratorio, causada por el incremento de la suberina depositada en la raíz, provoca decremento en las cantidades de Ca, Mn y Zn que se acumulan en las hojas (Baxter, 2009). Estos elementos entran a la planta siguiendo la vía apoplástica; en contraste, los elementos como S, K, As, y Mo, que entran usando la vía simplástica, incrementan su concentración en las hojas, bajo dicha condición.

Smith y Stewart (1990) proponen que el comportamiento de los estomas de *S. hermonthica* puede servir como modelo para el comportamiento de otras plantas hemiparásitas. Estas plantas tienen altas tasas transpiracionales, baja sensibilidad a la reducción de la cantidad de agua disponible y mantienen los estomas abiertos durante la noche debido a las altas concentraciones de K. Con base en los resultados del presente estudio, *P. laevigata* es el hospedero más eficiente para *P. calyculatus*. En general, el contenido mineral de *P. laevigata* fue menor que el de los otros hospederos, lo que podría deberse a que sufre mayor extracción por parte de la hemiparásita. Esto también se fundamenta en lo reportado por Gómez-Sánchez & Salazar-Olivo (2012), quienes señalan que *P. laevigata*, aparentemente, es el hospedero ancestral de la hemiparásita. Además, las hemiparásitas prefieren a las leguminosas como hospederos, debido a la mayor disponibilidad de N (Llugany et al, 2009); esto podría explicar el relativamente alto contenido de proteína de la hoja de *Psittacanthus*. De acuerdo con los resultados aquí mostrados, *P. calyculatus* es una planta que extrae eficientemente nutrientes de sus hospederos, acumulando K a altos niveles

High levels of Ca were absorbed by *U. divaricate* and *P. calyculatus* (Table 2) unlike the hemiparasitic plant *Odontites* spp. which tends to accumulate less than their hosts (Llugany et al., 2009), despite the high transpiration rates of the parasitic and hemiparasitic plants (Smith & Stewart, 1990; Kelly & Horning, 1999). The transpiration rates are achieved through the accumulation of solutes, such as K, in the stomatal cells (Smith & Stewart, 1990). It has been postulated that if Si followed the transpiration stream, this element could be accumulated at high levels in the leaves of the hemiparasitic plant rather than in their host plants (Baxter, 2009; Motomura, Fujii, & Susuki, 2006; Smith & Stewart, 1990). Decreased transpiration rate caused by the increase of the suberin in the root causes decrease in the amounts of Ca, Mn and Zn accumulated in the leaves (Baxter, 2009). These elements enter the plant following the apoplastic pathway, in contrast, the elements as S, K, As, and M, following the symplastic pathway, increase the concentration in leaves, under such condition.

Smith and Stewart (1990) propose that the behavior of the stomata of *S. hermonthica* can serve as a model for the behavior of other hemiparasitic plants. These plants have high transpiration rates, low sensitivity to reducing the amount of water available and maintain the stomata open during the night due to high concentrations of K. *P. laevigata* is the most efficient host for *P. calyculatus* based on the results of the present study. In general, the mineral content of *P. laevigata* was lower compared to other hosts, which could be due to increased extraction suffers from the hemiparasitic plant. This is also based on that reported by Gómez-Sánchez & Salazar-Olivo (2012), who indicate that *P. laevigata*, apparently, is the ancestral host of hemiparasitic plant. Moreover, hemiparasitic plants prefer legumes as hosts because of the greater availability of N (Llugany et al, 2009); this could explain the relatively high protein content of leaf of *Psittacanthus*. According to the results shown in this study, *P. calyculatus* is a plant that efficiently extracts nutrients from their hosts, accumulating high levels of K, used as osmolyte to attract transpirational flow to their own leaves (Schnabl & Rascke, 1980; Kelly & Horning, 1999). The statistical analysis indicates that *U. divaricate* accumulates higher amounts of certain minerals that could be used in the study of specific situations, such as phytoremediation (Baxter, 2009). *P. calyculatus* is considered a good model to study the transport of nutrients and their accumulation in the tissues.

#### Chlorophyll content in *P. calyculatus* and hosts

The analysis of variance showed no significant difference ( $P = 0.01$ ) in chlorophyll content between species (Table 3). Mean comparison groups *F. uhdei* and *S. taxifolia* with the highest content of chlorophyll *a*, *b* and total (Table 4). Chlorophylls are very important for plants because, they allow plants to perform photosynthesis and stabilize proteins that bind and protect them from degradation. Reaction centers contain chlorophyll *a*, while light harvesting complex also

que es usado como osmolito para atraer el flujo transpiracional hacia sus propias hojas (Schnabl & Rascke, 1980; Kelly & Horning, 1999). El análisis estadístico indica que *U. divaricate* acumula mayores cantidades de ciertos minerales que podrían ser usados en el estudio de situaciones específicas, como la fitorremediación (Baxter, 2009). Se considera que *P. calyculatus* es un buen modelo para estudiar el transporte de nutrientes y su acumulación en los tejidos.

**Contenido de clorofila en *P. calyculatus* y sus hospederos**

El análisis de varianza mostró que hay diferencias significativas ( $P = 0.01$ ) en el contenido de clorofila entre especies (Cuadro 3). La comparación de medias agrupa a *F. uhdei* y *S. taxifolia* con el mayor contenido de clorofilas a, b y total (Cuadro 4). Las clorofilas son muy importantes para las plantas ya que, además de permitirles llevar a cabo la fotosíntesis, estabilizan las proteínas a las que se unen y las protegen de la degradación. Los centros de reacción contienen clorofila a, en tanto los complejos cosechadores de luz contienen también clorofila b. Ambas clorofilas fueron detectadas en la hemiparásita y sus hospederos. Dependiendo de las condiciones de luz, las plantas pueden alterar la relación del LHCII (complejo cosechador de luz) que se asocia con alguno de los fotosistemas; cuando el LHCII es fosforilado, se mueve para asociarse con el fotosistema I (PSI) a fin de aliviar la sobre reducción de la plastoquinona. A más largo plazo, esto se refleja al incrementarse la cantidad de clorofila a respecto de la clorofila b (Allen, Santabarbara, Allen, & Puthiyaveetil, 2011). Se ha reportado que las condiciones de estrés como el calor, la sequía, el frío y la salinidad tienen un efecto adverso, provocando, entre otras cosas, la disminución en el contenido de clorofila (Díaz & Garza, 2006; González, Pastenes, & Horton, 2001). Esto podría explicar el bajo contenido hallado en *Prosopis*, un árbol adaptado a las condiciones de sequía que aunado a la extracción de nutrientes por parte de la hemiparásita ocasionan un efecto detrimental en la fisiología del árbol. Resulta notable que la hemiparásita contenga incluso más clorofila que algunos de sus hospederos; esto podría explicar el desarrollo de gran cantidad

CUADRO 3. Análisis de varianza de la cuantificación de clorofila de *Psittacanthus calyculatus* y de sus hospederos *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* y *Prosopis laevigata*.

TABLE 3. Analysis of variance to quantify chlorophyll of *Psittacanthus calyculatus* and their hosts *Salix taxifolia*, *Ulmus divaricate*, *Fraxinus uhdei* and *Prosopis laevigata*.

FV / SV	gl / DF	Cuadrados medios / Mean Squares		
		Clorofila a / Chlorophyll a	Clorofila b / Chlorophyll b	Clorofila total / Total Chlorophyll
Especies / Species	4	17.827**	2.964**	35.654**
Error	27	1.468	0.399	3.291

FV: Fuente de variación; gl: Grados de libertad; \*\*Significancia estadística  $P = 0.01$ .

SV: Source of variation; DF: Degrees of freedom; \*\* Statistical significance  $P = 0.01$ .

contain chlorophyll *b*. Both chlorophylls were detected in the hemiparasitic plant and their hosts. Depending on the lighting conditions, plants can alter the ratio of LHCII (light harvesting complex) that is associated with any of the photosystems, when LHCII is phosphorylated, moves to be associated with the photosystem I (PSI) to relieve the reduction of plastoquinone. In the longer term, this is reflected by increasing the amount of chlorophyll *a* with respect to chlorophyll *b* (Allen, Santabarbara, Allen, & Puthiyaveetil, 2011). It has been reported that stress conditions such as heat, drought, cold and salinity have an adverse effect, causing, among other things, the decrease in chlorophyll content (Díaz & Garza, 2006; González, Pastenes, & Horton, 2001). This could explain the low content found in *Prosopis*, a tree adapted to drought conditions that coupled with the removal of nutrients from the hemiparasitic plant cause a detrimental effect on the tree physiology. It is notable that even the hemiparasitic plant contains more chlorophyll than some of their hosts; this could explain the development

CUADRO 4. Comparación de medias de la cuantificación de clorofila de las hojas de la hemiparásita *Psittacanthus calyculatus* y de sus cuatro hospederos.

TABLE 4. Comparison of means to quantify chlorophyll of leaves of the hemiparasitic plant *Psittacanthus calyculatus* and the four hosts.

Especie / Species	Clorofila a / Chlorophyll a (mg)	Clorofila b / Chlorophyll b (mg)	Clorofila total (a + b) / Total Chlorophyll (a + b) (mg)
<i>Fraxinus uhdei</i>	8.157 a	3.022 a	11.182 a
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	4.488 b	1.194 bc	5.482 b
<i>Prosopis laevigata</i>	1.9 c	0.78 c	2.680 bc
<i>Salix taxifolia</i>	7.035 a	2.31 ab	9.345 a
<i>Ulmus divaricate</i>	3.535 bc	0.935 bc	4.470 bc

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS,  $P = 0.05$ ,  $n = 6$ ) \* *P. laevigata* ( $n = 8$ ) / Means with the same letter are statistically equal (LSD,  $P = 0.05$ ,  $n = 6$ ) \* *P. laevigata* ( $n = 8$ )

de follaje imponiéndose y cubriendo el follaje del hospedero, además de tener alta tasa transpiratoria que favorecería este crecimiento, algo que sin duda es necesario explorar más. También se ha demostrado que las hemiparásitas pueden adquirir compuestos carbonados de sus hospederos, además de agua y sales minerales; de tal forma que a pesar de la presencia de clorofila y del aparato fotosintético en las hemiparásitas, éstas sustraen fotoasimilados de sus hospederos (Press et al., 1987).

### Contenido de proteína en *P. calyculatus*

Los resultados mostraron que la hoja de la hemiparásita contiene 21 % de proteína, lo cual podría explicar que los pastores la incluyan en la alimentación del ganado caprino principalmente, pues al parecer favorece la producción de leche. Se ha reportado que el mezquite (*P. laevigata*) contiene 12.6 % de proteína (Carranza-Montaño, Sánchez-Velázquez, Pineda-López, & Cuevas-Guzmán, 2003) y *Fraxinus* y *Ulmus* tienen 13.3 y 11.9 %, respectivamente (Aizpuru & Catalán-Rodríguez, 1985). Es probable que la hemiparásita contenga N no proteico y eso explique, en parte, el alto contenido de proteína con relación al reportado para algunos árboles que le sirven de hospedero. Se ha documentado que la hemiparásita contiene metabolitos secundarios, entre ellos aminoácidos no proteicos que sin duda contribuyen al contenido de N total (Moustapha et al., 2011). También resulta interesante la relativamente alta concentración de clorofila, que muy probablemente debe estar unida a las proteínas.

### CONCLUSIONES

El muérdago *P. calyculatus* acumuló más K que sus hospederos y más P que *P. laevigata*. La hemiparásita mostró mayor contenido de clorofila que *P. laevigata* y *U. divaricate*; asimismo, el contenido de proteína (21 %) fue mayor que el reportado para sus hospederos. El alto contenido de proteína y el gran contenido de K y minerales explican la utilidad de *P. calyculatus* como forraje para ganado y, en parte, el impacto que tiene sobre sus hospederos. El hospedero *F. uhdei* presentó mayor contenido de C que las otras especies, lo cual lo hace candidato para estudios de captura de tal elemento. Por otra parte, *U. divaricate* acumuló más Si que las otras especies, por lo que pudiera considerarse como modelo de estudio para observar los efectos de este nutriente. La hemiparásita *P. calyculatus* es un buen modelo para estudiar el transporte de nutrientes y su acumulación en los tejidos de la planta.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONCYTEG por el apoyo a los proyectos GTO-2011-C03-160509 Y GTO-2011-C03-160518.

### REFERENCIAS

Aizpuru, I., Catalán-Rodríguez, P., & Catalán-Calvo, M. (1985). Composición nitrogenada de algunas plantas del somontano oscense. Anales de la Estación Experimental de Aula Dei, 17, 264-277.

of large amount of foliage, imposing and covering the foliage of the host, besides having high transpiration rate that would favor this growth, something that certainly needs to be explored more. It has also been demonstrated that hemiparasitic plants can acquire carbon compounds from their hosts, as well as water and mineral salts, so that despite the presence of chlorophyll and the photosynthetic machinery in the hemiparasitic plants, these subtract photoassimilates from their hosts (Press et al., 1987).

### Protein content in *P. calyculatus*

The results showed that the hemiparasitic leaf contains 21 % protein, which could explain that farmers included this leaf in the feeding of goats mainly because it seems to increase milk production. It has been reported that mesquite (*P. laevigata*) contains 12.6 % protein (Carranza-Montaño, Sánchez-Velázquez, Pineda-López, & Cuevas-Guzmán, 2003) and *Fraxinus* and *Ulmus* have 13.3 and 11.9 %, respectively (Aizpuru & Catalán-Rodríguez, 1985). It is possible that the hemiparasitic plant has non-protein N and this explains, in part, the high protein content relative to that reported for some trees that serve as host. It has been documented that the hemiparasitic plant contains secondary metabolites, including nonprotein amino acids that undoubtedly contribute to the content of total N (Moustapha et al., 2011). The relatively high concentration of chlorophyll, which most likely must be connected to proteins, is also very interesting.

### CONCLUSIONS

Mistletoe *P. calyculatus* accumulated more K than their hosts and more P compared to *P. laevigata*. The hemiparasitic plant showed higher content of chlorophyll compared to *P. laevigata* and *U. divaricate*, also the protein content (21 %) was higher than that reported for their hosts. The high protein content and high K and mineral content explain the usefulness of *P. calyculatus* as forage for livestock and, in part, the impact on their hosts. The host *F. uhdei* had higher C content compared to other species, making it a candidate for studies capturing this element. Moreover, *U. divaricate* accumulated more silicon than the other species, so it could be considered as a model study to observe the effects of this nutrient. The *P. calyculatus* hemiparasitic plant is a good model to study the transport of nutrients and their accumulation in plant tissues.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks to the Council of Science and Technology of Guanajuato (CONCYTEG) for the support to perform the projects GTO-2011-C03-160509 and GTO-2011-C03-160518.



- Obtenido de [http://digital.csic.es/bitstream/10261/13860/1/ANALES\\_17\\_3-4-Composici%C3%B3n%20nitrogenada.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/13860/1/ANALES_17_3-4-Composici%C3%B3n%20nitrogenada.pdf)
- Allen, J. F., Santabarbara, S., Allen, C. A., & Puthiyaveetil, S. (2011). Discrete redox signaling pathways regulate photosynthetic light-harvesting and chloroplast gene transcription. *PLOS ONE*, 6(10), e26372. doi: 10.1371/Journal.pone.0026372
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15. doi: 10.1104/pp.24.1.1
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Protein (Crude) Determination in animal feed: Copper Catalyst Kjeldahl Method. (984.13). Official Methods of Analysis. USA: Autor.
- Baxter, I. (2009). Ionomics: Studying the social network of mineral nutrients. *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 381–386. doi: 10.1016/j.pbi.2009.05.002
- Broadley, M. R., Hammond, J. P., King, G. J., Astley, D., Bowen, H. C., Meacham, M. C.,... White, P. J. (2008). Shoot calcium and magnesium concentrations differ between subtaxa, are highly heritable, and associate with potentially pleiotropic loci in *Brassica oleracea*. *Plant Physiology*, 146, 1707–1720. doi: 10.1104/pp.107.114645
- Carou, N. E., De Loof, E., Casaubon, E., González, A., & Dallorso, M. E. (2010). Composición mineral de hojas de alamos y sauces de interés nutricional para el ganado en sistemas silvopastoriles del delta del Paraná, República Argentina. *Livestock Research for Rural Development*, 22, 1–8. <http://www.lrrd.org/lrrd22/1/caro22013.htm>
- Carranza-Montaño, M. A., Sánchez-Velázquez, L. R., Pineda-López, M. R., & Cuevas-Guzmán, R. (2003). Calidad y potencial forrajero de especies del bosque tropical caducifolio de la sierra de Manantlán, México. *Agrociencia*, 37, 203–210. Obtenido de <http://www.colpos.mx/agrociencia/Bimestral/2003/mar-abr/art-11.pdf>
- Clark-Tapia, R., Torres-Bautista, B., Alfonso-Corrado, C., Valdez-Hernández, J. I., González-Adame, G., Bretado-Velázquez, J., & Campos Contreras, J. (2011). Análisis de la abundancia e infección por muérdago en Sierra Fría, Aguascalientes, México. *Maderas y Bosques*, 17, 19–33. Obtenido de <http://www1.inecol.edu.mx/myb/resumeness/17.2/MyB1721933.pdf>
- Díaz, F. A., & Garza, C. I. (2006). Colonización micorrizica arbuscular y crecimiento de genotipos de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29, 203–206. <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/29-3/3a.pdf>
- Epstein, E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 91, 11–17. <http://www.pnas.org/content/91/1/11.abstract>
- Gómez-Sánchez, M., & Salazar-Olivo, L. A. (2012). Los muérdagos: Plantas parásitas y su importancia. In Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Ed.), *La biodiversidad de Guanajuato. Estudio de Estado (Ed.)* (vol. 2, pp. 139–146). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)-Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE). Obtenido de [http://www.biodiversidad.gob.mx/región/EEB/pdf/guanajuato\\_vol2.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/región/EEB/pdf/guanajuato_vol2.pdf)
- González, J., Pastenes, C., & Horton, P. (2001). Efecto de la temperatura, el estrés hídrico y luminoso sobre la heterogeneidad del fotosistema II en cuatro variedades de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Chilena de Historia Natural*, 74, 779–791. Obtenido de <http://www.scielo.cl/pdf/rchnat/v74n4/art06.pdf>
- Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 259–266. doi: 10.1016/j.pbi.2009.05.006
- Kelly, C. K., & Horning, K. (1999). Acquisition order and resource value in *Cuscuta attenuate*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 96, 13219–13222. doi:10.1073/pnas.96.23.13219
- Liu, D., Kottke, I., & Adam, D. (2007). Localization of cadmium in the root cells of *Allium cepa* by energy dispersive X-ray analysis. *Biologia Plantarum*, 51, 363–366. doi:10.1007/s10535-007-0075-z
- Llugany, M., Lombini, A., Dinelli, E., Poschenrieder, C., & Barceló, J. (2009). Transfer of selected mineral nutrients and trace elements in the host-hemiparasite association, *Cistus-Odontites lutea*, growing on and off metal polluted sites. *Plant Biology*, 11, 170–177. doi:10.1111/j.1438-8677.2008.00094.x
- Moustapha, B., Gutiérrez-Avella, D. M., Fuentes-Ordaz, R., Castañeda-Moreno, R., & Martínez, M. (2011). Chemical constituents of the mexican mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). *Molecules*, 16, 9397–9403. doi:10.3390/molecules16119397
- Motomura, H., Fujii, T., & Susuki, M. (2006). Silica deposition in abaxial epidermis before the opening of leaf blades of *Pleioblastus chino* (Poaceae, Bambusoideae). *Annals of Botany*, 97, 513–519. doi:10.1093/aob/mcl014
- Press, M. C., & Phoenix, G. K. (2005). Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist*, 166, 737–751. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01358.x
- Press, M. C., Shah, N., Tuohy J. M., & Stewart, G. R. (1987). Carbon isotope ratios demonstrate carbon flux from C<sub>4</sub> host to C<sub>3</sub> parasite. *Plant Physiology*, 85, 1143–1145. doi:10.1104/pp.85.4.1143
- Raya-Pérez, J. C., & Aguirre-Mancilla, C. L. (2009). Composición elemental de algunas especies de plantas silvestres mexicanas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15, 95–99. Obtenido de [http://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?id\\_articulo=513](http://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?id_articulo=513)
- Schnabl, H., & Rasche, K. (1980). Potassium chloride as stomatal osmoticum in *Allium cepa* L., a species devoid of starch in guard cells. *Plant Physiology*, 65, 88–93. doi:10.1104/pp.65.1.88
- Smith, S., & Stewart, G. R. (1990). Effect of potassium levels on the stomatal behavior of the hemi-parasite *Striga hermonthica*. *Plant Physiology*, 94, 1472–1476. doi:10.1104/pp.94.3.1472
- Statistical Analysis System (SAS). (2002). User's guide: Statistics. Version 9.0. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Vázquez-Collazo, I., & Geils, B. W. (2002). *Psittacanthus* in Mexico. In B. W. Geils, J. Cibrián-Tovar, & B. Moody (Eds.), *Mistletoes of north American conifers* (pp. 19–28). Ogden, UT, USA: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.