



Fundación
Miguel Lillo
Tucumán
Argentina

doi

Morfoanatomía, palinología y caracterización de la secuencia ITS2 de *Cuscuta grandiflora* (Convolvulaceae)

Morphoanatomy, palynology, and characterization of the ITS2 sequence of *Cuscuta grandiflora* (Convolvulaceae)

Páez Valeria de los A.¹; Ana I. Ruiz²; Aldo R. Andrada^{1*}; Nora J. F. Reyes³; María L. Espeche³; Patricia L. Albornoz⁴

¹ Instituto de Genética y Microbiología. Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, Tucumán (4000JFT), Argentina.

² Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, Tucumán (4000JFT), Argentina.

³ Instituto de Taxonomía Fanerogámica y Palinología. Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, Tucumán (4000JFT), Argentina.

⁴ Investigadora independiente. Guayana 751, Tucumán (4107XAB), Yerba Buena, Argentina.

* Autor correspondiente: <arandrada@lillo.org.ar>

Resumen

El género *Cuscuta* comprende plantas holoparásitas con una gran diversidad en Sudamérica, algunas de las cuales son malezas agrícolas importantes. *Cuscuta grandiflora* es nativa del Noroeste Argentino y ha sido escasamente caracterizada desde el punto de vista morfoanatómico, no así desde la filogenia molecular. Este estudio tiene como objetivo proporcionar una descripción de su anatomía floral y vegetativa, la morfología polínica y la caracterización de la estructura secundaria del marcador de ARN ribosómico ITS2. El material vegetal fue analizado mediante técnicas histológicas, palinológicas y moleculares estándar. *C. grandiflora* exhibe flores pentámeras, gamosépalas y gamopétalas con lóbulos marginales fimbriados. El perianto presenta epidermis unistrata, cutícula estriada, estomas, tricomas glandulares, mesofilo homogéneo y laticíferos articulados. Entre los caracteres florales se destacan un ovario con dos estilos cuyas epidermis son papilosas, estigmas con

► Ref. bibliográfica: Páez, V. de los Á.; Ruiz, A. I.; Andrada, A. R.; Reyes, N. J. F.; Espeche, M. L.; Albornoz, P. L. 2026. Morfoanatomía, palinología y caracterización de la secuencia ITS2 de *Cuscuta grandiflora* (Convolvulaceae). *Lilloa* 63 (2): 325-354. doi: <https://doi.org/10.30550/j.lil/2394>

► Recibido: 13 de abril 2026 – Aceptado: 11 de julio 2026 – Publicado: 9 de septiembre 2026.

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>



OPEN ACCESS

► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

pelos glandulares y nectario anular, estructurado, con cutícula lisa y nectarostomas. Los tallos haustoriales poseen epidermis unistrata, estomas elevados y seis a nueve haces vasculares colaterales con canales secretores y la conexión haustorial es con xilema y floema. Los granos de polen son isopolares y radiosimétricos, con formas que varían desde esferoidales prolados hasta suboblatos y tetra a pentacolpados. La exina es microreticulada y heterobrocada con nanoespínulas. La secuencia ITS2 (212 pb) se pliega formando una estructura secundaria con cuatro hélices, aunque no todas se originan en el anillo central. Estos hallazgos establecen una base interdisciplinaria para futuras investigaciones taxonómicas y filogenéticas dentro del género.

Palabras clave: Cabello de ángel; flor; morfoanatomía; tallo.

Abstract

The genus *Cuscuta* comprises holoparasitic plants with a high degree of diversity in South America, some of which are major agricultural weeds. *Cuscuta grandiflora* is native to Northwestern Argentina, and although it has been investigated from a molecular phylogenetic standpoint, this species remains poorly characterized from a morphoanatomical perspective. The objective of this study is to describe its floral and vegetative anatomy and, pollen morphology, and to characterize of the secondary structure of the ITS2 ribosomal RNA marker. Plant material was analyzed using standard histological, palynological, and molecular techniques. *C. grandiflora* exhibits pentamerous, gamosepalous, and gamopetalous flowers with fringed marginal lobes. The perianth features a unistrate epidermis, a striated cuticle, stomata, and glandular trichomes, a homogeneous mesophyll, and articulated lactifers. Notable among the floral characteristics are an ovary with two styles with papillate epidermis, stigmas with glandular hairs, and a structured, annular nectary with a smooth cuticle and nectarostomes. The haustorial stems have a unistratified epidermis, elevated stomata, and six to nine collateral vascular bundles with secretory canals; the haustorial connection involves both xylem and phloem. Pollen grains are isopolar and radially symmetrical, with shapes ranging from prolate-spheroidal to suboblate, and from tetra- to pentacolpate. The exine is microreticulate and heterobrochate with nanospinules. The ITS2 sequence (212 bp) folds to form a secondary structure with four helices, although not all of them originate from the central ring. These findings establish an interdisciplinary foundation for future taxonomic and phylogenetic research within the genus.

Keywords: Dodder; flower; morphoanatomy; stem.

INTRODUCCIÓN

El género *Cuscuta* L. (Convolvulaceae) comprende alrededor de 200 especies holoparásitas que se distribuyen en el viejo y nuevo mundo (Stefanović *et al.*, 2007; Costea *et al.*, 2015), en estas especies los caracteres florales son de particular importancia taxonómica dado que su forma de vida ha llevado a la reducción y pérdida de estructuras vegetativas (Kuijt, 1969). Las características morfológicas de los estigmas y estilos son los elementos de valor diagnóstico utilizados para definir a tres subgéneros ampliamente distribuidos: *Monogynella* Engelm. ex Yunck., presenta el gineceo con un estilo y varias formas de estigmas; *Cuscuta* Engelm., los dos estilos son de longitud semejante con estigmas elongados y *Grammica* Yunck., donde el gineceo posee dos estilos de diferente longitud y variación en la forma del estigma (Yuncker, 1932; Wright *et al.*, 2011). Los dos primeros subgéneros se encuentran en Europa, Asia, África y América del Norte; mientras que *Grammica*, con el mayor número de especies (155 aproximadamente), se distribuye en todos los continentes (Hunziker, 1949; McNeal *et al.*, 2007).

Metcalfe y Chalk (1950) describieron caracteres anatómicos para *Cuscuta*, entre ellos se mencionan, flores periantadas con tricomas simples uni-bicelulares; tallo con células secretoras en el cortex, con periciclo, raramente una médula y el floema más desarrollado que el xilema. Se evidencian antecedentes referidos al tallo en *C. australis* R. Brown, *C. campestris* Yunck. y *C. pedicellata* Ledeb., entre otras, donde se describe la presencia de estomas y protuberancias estomatíferas con epidermis unistrata, corteza de cinco o seis capas de células parenquimáticas con granos de almidón y haces vasculares colaterales que forman una eustela central. El desarrollo de los haustorios incluye diferentes etapas descritas por numerosos autores Yuncker (1943), Lyshede (1985), Lee y Lee (1989), Lee (2007), Hong *et al.* (2011) Clayson *et al.* (2014) y Chitralkha *et al.* (2022).

Con respecto a la morfología polínica, se describe a *Cuscuta* con formas tri o tetracolpadas, con la exina ornamentada y microreticulada (Heusser, 1971; Laguardia, 1961; Liao *et al.*, 2005; Romeiro *et al.*, 2023). Welsh *et al.* (2010), mencionan que los caracteres del polen desempeñan un rol crucial en la delimitación de las especies de *Grammica*, caracterizados por una notable diversidad palinológica. La variación polínica es tan amplia que refleja casi todo el espectro del género, aunque predomina la condición tricolpada, mientras que en *C. grandiflora* Kunth se observa polen cinco a ocho colpado.

Con relación a la filogenia molecular, McNeal *et al.* (2007) analizaron la evolución sistemática y genómica del género *Cuscuta* a través de ADN nuclear ITS y plastidial rps2, rbcL y matk; determinando la monofilia en *Grammica*. Stefanović *et al.* (2007) proporcionaron una filogenia completa del subgénero *Grammica* basada en ITS y rbcL que incluye más de 110 especies, entre ellas *C. grandiflora*.

Dichos autores demostraron que *Grammica* tiene 15 clados principales y *C. grandiflora* pertenece al "clado O". Braukmann *et al.* (2013) evidenciaron que los genes de los plastidios se perdieron en todo el clado O, incluso en *C. grandiflora*. García *et al.* (2014) ampliaron los estudios para el género utilizando los genes nrLSU y rbcL, evidenciando las mismas relaciones evolutivas en el "clado O" para la especie. Con base en los datos moleculares de estos dos últimos estudios, Costea *et al.* (2015) redefinieron formalmente la sección Subulatae, la más grande en el subgénero *Grammica*. Finalmente, más recientemente, *C. grandiflora* se incorporó en la filogenia molecular basada en ITS, de un grupo de especies de la sección Subulatae con la descripción de *Cuscuta mantiqueirana* Costea, S.S. Silva & Sim. Bianch., una nueva especie de Brasil (Costea *et al.*, 2021).

Cabe destacar que el marcador ITS2 es una secuencia "barcode" con alto potencial para la identificación de especies y su estructura secundaria es importante en la elaboración de filogenias, debido a que brinda un soporte mayor en los nodos durante la construcción de árboles filogenéticos, lo que permite establecer relaciones más certeras en niveles taxonómicos superiores a especie (Grajales *et al.*, 2007; Stefanović *et al.*, 2007; Schultz y Wolf, 2009; Chen *et al.*, 2010; Yao *et al.*, 2010). En algunas especies de *Cuscuta* se han llevado a cabo plegados de estructuras secundarias del intrón ITS2 (Demir *et al.*, 2020), sin embargo, no fue posible observar la estructura típica del transcripto primario de ARN.

Cuscuta grandiflora (Fig. 1A-B) se distribuye a lo largo de los Andes en Colombia, Chile y en Argentina en las provincias de Catamarca, Jujuy, Salta y Tucumán, donde crece sobre plantas leñosas en bosques ribereños húmedos (Hunziker, 1947). Se caracteriza por presentar tallos trepadores filiformes, que portan glomérulos paucifloros; las flores son perfectas, heteroclamídeas, pediceladas, actinomorfas, pentámeras, hipóginas; sépalos con lóbulos triangular-aovados, obtusos, membranáceos con bordes fimbriados; corola gamopétala, con tubo infundibuliforme más corto que los lóbulos; pétalos de color morado en la base y blanco en los extremos, lóbulos obtusos, con bordes fimbriados (Yuncker, 1932; Hunziker, 1947). A la fecha no se registraron contribuciones anatómicas, palinológicas y moleculares para material de esta especie recolectado en el NOA.

Con base en lo expuesto, el objetivo de este trabajo es caracterizar la anatomía floral, el tallo haustorial, describir la morfología del grano de polen y determinar la estructura secundaria del transcripto primario del marcador molecular ITS2 de *Cuscuta grandiflora*.



Fig. 1. *Cuscuta grandiflora*. A) Hábito. B) Detalle de flor y tallo haustorial.

Fig. 1. *Cuscuta grandiflora*. A) Plant habit. B) Detail of a flower and a haustorial stem.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal se encuentra depositado en el herbario (LIL). *Cuscuta grandiflora* Kunth: ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Trancas, Camino a Lara, 1800 m snm, 17-III-2008, *Cristóbal de Hinojo M. E - Lozzia M. E.* 610023 (LIL); Dpto. Trancas, Hualinchay, 1953 m snm, 01-VI-2010, *Páez V.* 610882 (LIL); Dpto. Trancas, Hualinchay, 1953 m snm, 01-VI-2010, *Lozzia M. E.* 610883 (LIL); Dpto. Trancas, Hualinchay, 1953 m snm, 30-III-2010, *Páez, V.* 610887 (LIL).

Análisis de la morfoanatomía

El material de estudio consistió en flores con pétalos de base morada y ápices blancos, junto con tallos haustoriales autoparasitados. Ambos órganos, tomados de cinco individuos recolectados al azar, fueron fijados en FAA (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Para la observación de las superficies de los distintos órganos florales se realizaron diafanizados, los que posteriormente fueron teñidos con azul astra o violeta cristal y montados en agua glicerina (1:1, v/v) (Dizeo de Strittmater, 1973).

Se realizaron cortes transversales a “mano libre” de las piezas florales y tallos haustoriales, los que fueron clarificados, teñidos con una doble tinción sucesiva de azul astra-safranina y montados en agua glicerina (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las pruebas histoquímicas para la detección de almidón y fenol fueron solución de lugol y cloruro férrico, respectivamente (Zarlavsky, 2014).

Para las secciones transversales ultrafinas, los órganos florales se fijaron en una solución de Karnovsky (formaldehído al 4%, glutaraldehído al 5% y tampón fosfato sódico 0,1 mol-L tampón fosfato sódico, pH 7,4) (Karnovsky, 1965), luego en una solución 1/1 de tampón fosfato sódico con tetróxido de osmio al 2%. Tras la incubación con ambos fijadores a 4 °C durante la noche, se lavaron las muestras, se incrustaron en resina de Spurr, se cortaron con ultramicrotomo y se obtuvieron cortes ultradelgados de 3 μm de espesor. Las secciones se tiñeron con azul de toluidina al 0,05% (Heslop-Harrison y Heslop-Harrison, 1981).

Las observaciones se realizaron con estereomicroscopio (Olympus Co, Olympus SZX7) y microscopio óptico con luz polarizada (Carl Zeiss, Axio-star Plus), acoplado a una cámara digital (Canon A620, Power Shot 7,1 MP).

Para el estudio ultraestructural de las piezas florales, el material se fijó en una solución de Karnovsky, se deshidrataron con alcohol y acetona, luego se secaron a punto crítico en CO₂ líquido y se recubrieron con oro-paladio por pulverización catódica. Las observaciones se realizaron en microscopio electrónico de barrido (Zeiss Supra 55VP), del Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME, CONICET-UNT). Las microfotografías se tomaron con una cámara digital (Olympus SP350, 8,0 MP).

Análisis de la morfología del grano de polen

El material polínico fue extraído de botones florales maduros y tratado con técnicas palinológicas para polen no acetolizado (Wodehouse, 1935) y acetolizado (Erdtman, 1960). Se midieron los siguientes parámetros sobre un mínimo de 20 granos: eje polar (P), diámetro ecuatorial (E), número, mesocolpio y apocolpio, largo y ancho de los colpos y espesor de la exina (sexina/nexina). Los preparados se conservan en la PAL-TUC-LIL.

Las observaciones del material acetolizado, mediciones y las microfotografías se realizaron con cámara Axiocam ERc5s incorporada a un microscopio óptico Zeiss (Axio LAB A1, Göttingen, Alemania). Para el análisis de la escultura de los granos de polen se tomaron microfotografías de material no acetolizado, con microscopio electrónico de barrido, del Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME, CONICET-UNT). La terminología empleada en las descripciones de los tipos polínicos corresponde a Sáenz Laín (2004) y Punt *et al.* (2007).

Análisis de las secuencias ITS2

Se siguieron los protocolos de extracción, amplificación y secuenciación de ADN descritos por Andrada *et al.* (2022). Las dos secuencias completas ITS2 de *Cuscuta grandiflora* (Accession numbers: EF194535.1, OQ411846.1) se obtuvieron de ITS2-database (Ankenbrand *et al.*, 2015) y GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Para comparar las secuencias se realizó el emparejamiento de similitud con el programa BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

La eliminación de las secuencias ribosomales, que flanquean al segmento ITS2, se realizó según Keller *et al.* (2009). La alineación automática de las secuencias de ADN se llevó a cabo con el programa SeaView 4 (Gouy *et al.*, 2010), mientras que el alineamiento manual y el estudio comparativo de las secuencias se realizaron con el programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

Para la construcción de la estructura secundaria del transcripto primario de ARN se usó el software RANfold (Lorenz *et al.*, 2011). La estructura obtenida se comparó con las depositadas en la base de datos ITS2 Ribosomal RNA (<https://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de>), para el género *Cuscuta* (Merget *et al.*, 2012). Las visualizaciones de las estructuras secundarias se llevaron a cabo con el software PseudoViewer 3 (Byun y Han, 2009).

RESULTADOS

Morfología floral

Cuscuta grandiflora posee flores perfectas. El cáliz es gamosépalo con cinco sépalos triangulares, membranáceos soldados en la base. La corola es gamopétala, pentalobada. El cáliz y la corola presentan márgenes fimbriados (Fig. 1B, Figs. 2A, D, I). El androceo está formado por cinco estambres, insertos en la cara interna del tubo corolino, las anteras son dorsifijas, bitecas, con dehiscencia longitudinal. El gineceo presenta ovario súpero con dos estilos y estigmas subglobosos a reniformes. El disco nectarífero se encuentra en la base del gineceo rodeando el ovario (Fig. 2A).

Anatomía del perianto

En vista superficial los sépalos presentan la epidermis adaxial con células isodiamétricas, siendo rectangulares en la superficie abaxial; las paredes celulares son rectas a curvas con cutícula levemente estriada, en ambas epidermis (Fig. 2B, C). En el margen fimbriado de los sépalos se evidencian tricomas glandulares de dos tipos: a) pie pluricelular uniseriado y cabeza unicelular, b) pie y cabeza unicelular en diferentes estadios de desarrollo (Fig. 2D). Estomas anfidiacíticos se presentan en la superficie adaxial (Fig. 2E).

En los pétalos la epidermis de ambas superficies presentan células papilosas, isodiamétricas a rectangulares de paredes rectas a curvas, con cutícula fuertemente estriada (Fig. 2F). Los tricomas son semejantes a los descritos para sépalos, los de tipo “a” se observan en la lámina (Fig. 2G, H); mientras que, los de tipo “b” se presentan en el margen (Fig. 2I, J). Los estomas de tipo actinocíticos y paracíticos son escasos en epidermis adaxial (Fig. 2K, L). Las piezas del perianto poseen numerosos laticíferos articulados no ramificados en el mesofilo (Fig. 3A, C).

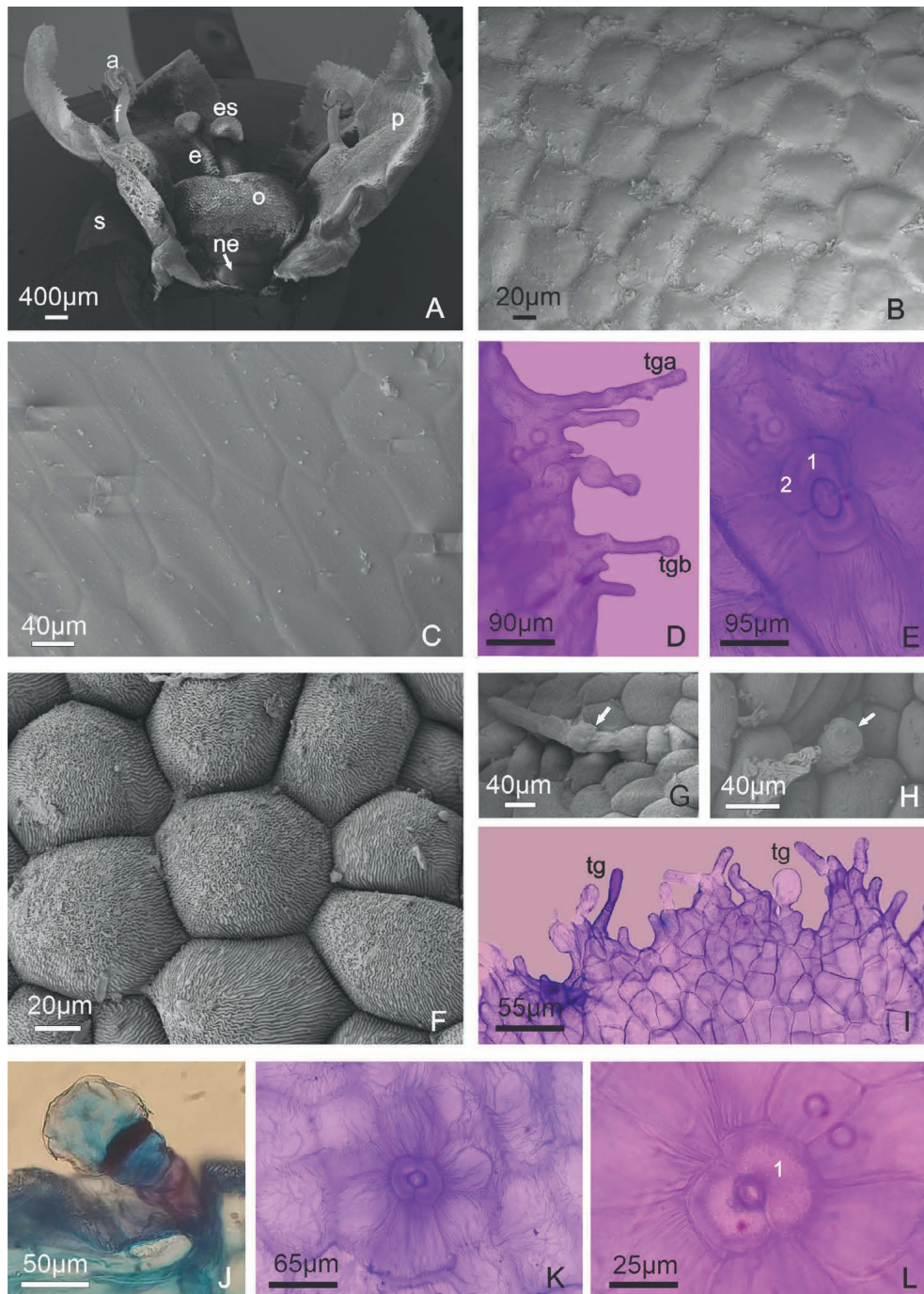


Fig. 2. *Cuscuta grandiflora*. A-C, F-H: Microscópio electrónico de barrido. D, E, I-L: Microscópio óptico. A) Aspecto general de una flor perfecta. B-E) Sépalos. B) Epidermis adaxial. C) Epidermis abaxial. D) Margen fimbriado con dos tipos de tricomas glandulares. E) Estoma anfidiacítico. F-L) Pétalos. F) Epidermis con cutícula fuertemente estriada. G, H) Tricomas sobre la lámina. G) Simple, pluricelular y uniseriado. H) Glandular, con pie pluricelular uniseriado y cabeza unicelular. I, J) Margen del pétalo con tricomas glandulares. K, L) Epidermis adaxial. K) Estoma actinocítico. L) Estoma paracítico. Abreviaturas: a, antera; e, estilo; es, estigma; f, filamento; ne, nectario; o, ovario; p, pétalo; s, sépalo; tg, tricoma glandular; tga, tricoma glandular con pie pluricelular uniseriado y cabeza unicelular; tgb, tricoma glandular con pie y cabeza unicelular; 1, célula oclusiva; 2, célula subsidiaria.

► **Fig. 2.** *Cuscuta grandiflora*. A-C, F-H: Scanning electron microscope. D, E, I-L: Optical microscope. A) General appearance of the perfect flower. B-E) Sepals. B) Adaxial epidermis. C) Abaxial epidermis. D) Fimbriate margin with two types of glandular trichomes. E) Amphidiatic stoma. F-L) Petals. F) Epidermis with strongly striated cuticle. G, H) Trichomes on the lamina. G) Simple, multicellular, and uniseriate. H) Glandular, with a uniseriate multicellular foot and a unicellular head. I, J) Petal margin with glandular trichomes. K, L) Adaxial epidermis. K) Actinocytic stoma. L) Paracytic stoma. Abbreviations: a, anther; e, style; es, stigma; f, filament; ne, nectary; o, ovary; p, petal; s, sepal; tg, glandular trichome; tga, glandular trichome with a uniseriate multicellular foot and a unicellular head; tgb, glandular trichome with a unicellular foot and head; 1, guard cell; 2, subsidiary cell.

En sección transversal, los sépalos y los pétalos presentan contorno en forma de “V” abierta; siendo cóncavo en sépalos (Fig. 3B) y convexo en pétalos con una prominencia hacia el hipófilo a nivel del nervio central, con prominencias menores que corresponden a los nervios secundarios (Fig. 3E). Los extremos de estos órganos son aguzados (Fig. 3D). Ambas epidermis son unistratas, el mesofilo parenquimático es homogéneo con tres a cinco capas de células en sépalos y de dos a tres capas en pétalos, con haces vasculares colaterales. Se evidencia laticíferos y amiloplastos de granos simples en el mesofilo (Fig. 3C, F).

Anatomía del androceo

Los estambres presentan filamentos cortos y anteras reniformes bitecas de dehiscencia longitudinal (Figs. 2A y 3G). En vista superficial el filamento presenta células epidérmicas rectangulares con cutícula estriada (Fig. 3H). En sección transversal el contorno es subcircular, la epidermis unistrata, internamente cuatro a seis capas de células parenquimáticas isodiamétricas con espacios intercelulares; en posición central, un único haz vascular de xilema rodeado de floema, con un conducto secretor asociado al xilema (Fig. 3I). Las anteras en vista superficial presentan células rectangulares con cutícula fuertemente estriada (Figs. 3J, K). En sección transversal dos tecas se unen por el tejido conectivo innervado por un haz vascular (Fig. 3L). La pared antearial presenta epidermis externa, endotecio, epidermis interna y restos de células tapetales (Fig. 3L). Cada teca tiene dos sacos polínicos que contienen granos de polen cuatro a cinco colporados (Figs. 5G, H). Se observan laticíferos en posición subepidérmica (Fig. 3L).

Anatomía del gineceo

El ovario tiene forma ovoide (Fig. 3M), se encuentra cubierto por células epidérmicas fuertemente papilosas cuadrangulares con paredes rectas y cutícula muy estriada (Fig. 3N). En sección transversal el ovario es bilocular, con dos óvulos anátropos bitegmentados en cada lóculo y placentación axilar. La pared ovárica presenta epidermis externa e interna unistrata, mesofilo parenquimático homogéneo de seis a 10 capas en el cual se encuentran los haces vasculares (Fig. 3O).

Los estilos son de igual altura, cilíndricos con una longitud que varía de 0,48 a 0,91 mm. En vista superficial las células epidérmicas son rectangulares y papilosas con cutícula fuertemente estriada (Fig. 3P). El sector medio del estilo, en corte transversal, presenta epidermis unistrata, internamente el parénquima está formado por seis a 11 capas de células que contienen granos de almidón simple y laticíferos subepidérmicos, en posición central se ubica el tejido de transmisión macizo. La vascularización de los estilos es reducida, no se observa xilema (Fig. 3Q). Los estigmas exhiben numerosos pelos estigmáticos glandulares pluricelulares uniseriados (Fig. 3P).

Anatomía del nectario floral

El nectario es un disco anular que rodea la base del ovario (Fig. 3M), lobulado y estructurado, de color más claro que el ovario, y se haya vascularizado. El tejido nectarífero en vista superficial comprende epidermis de células rectangulares con cutícula lisa y nectarostomas anomocíticos (Fig. 3R). En sección transversal y longitudinal, la epidermis es unistrata con nectarostomas levemente elevados, por debajo 20 a 25 capas de parénquima nectarífero que se tiñen intensamente y contienen abundante almidón, cristales de oxalato de calcio en forma de cubos y tubos laticíferos articulados simples y ramificados (Figs. 3S, T). Este tejido secretor no evidencia espacios intercelulares y se halla irrigado por xilema y floema.

Anatomía del pedúnculo floral

En vista superficial las células epidérmicas son rectangulares con cutícula estriada. En sección transversal, es de forma subcircular con epidermis unistrata, internamente dos a tres capas de colénquima laminar y angular, se continua con dos a tres estratos de células parenquimáticas, cinco haces vasculares colaterales con casquetes de esclerénquima no lignificado hacia floema, canales secretores con contenidos fenólicos hacia xilema y una pequeña médula parenquimática central. Se observó la presencia de laticíferos subepidérmicos, granos de almidón y braquiesclereidas no lignificadas en la corteza parenquimática (Figs. 3U, V).

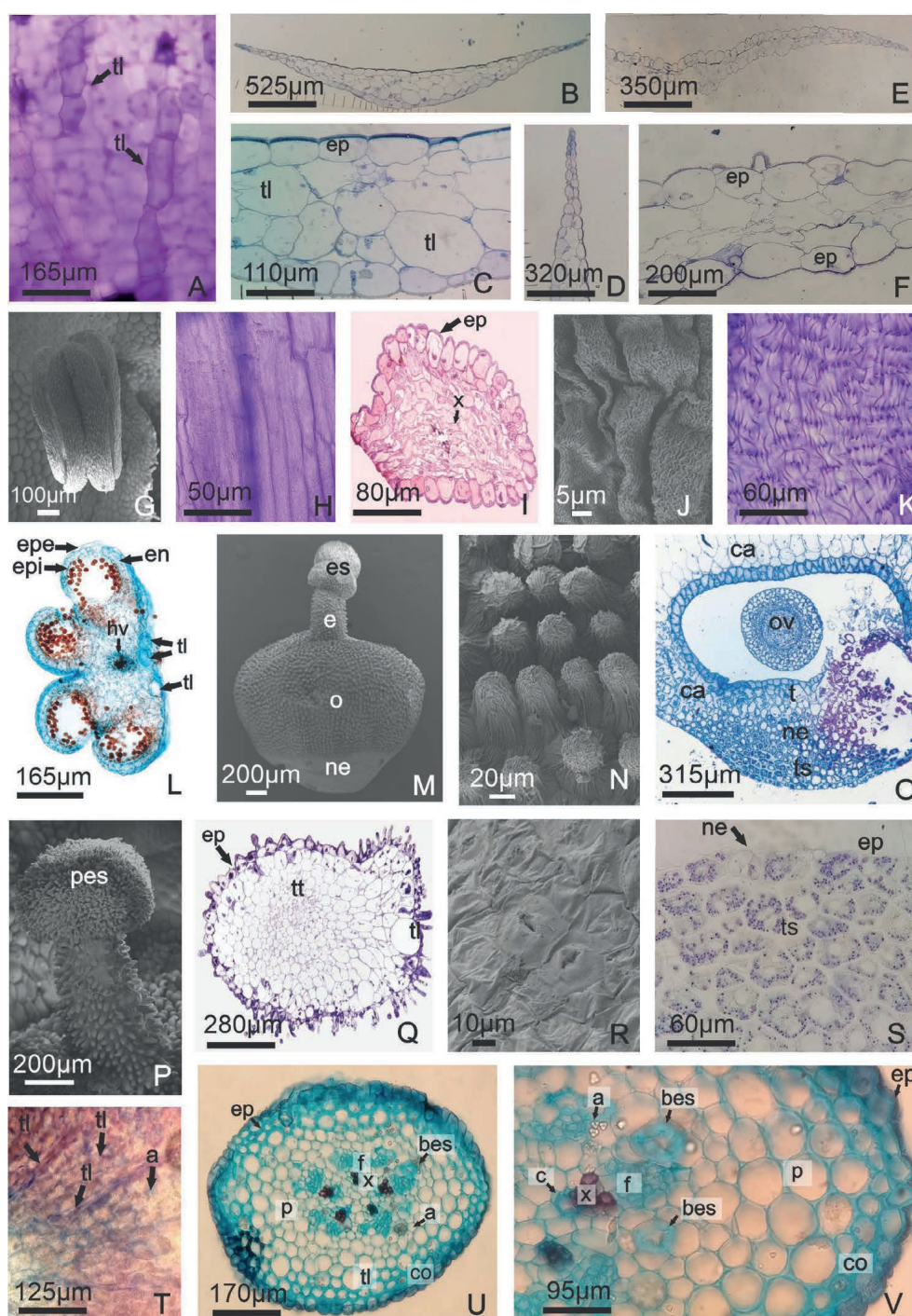


Fig. 3. *Cuscuta grandiflora*. G, J, M, N, P, R: Microscopio electrónico de barrido. A-F, H, I, K, L, O, Q, S-V: Microscopio óptico. A) Laticíferos articulados. B-F) Cortes transversales. B-D) Sépalo. B) Contorno cóncavo-convexo. C) Detalle de epidermis y mesofilo. D) Detalle extremo aguzado. E, F) Pétalo. E) Contorno con prominencias hacia el hipofilo. F) Detalle de epidermis y mesofilo. G-L) Androceo. G) Antera biteca. H) Epidermis del filamento. I) Corte transversal del filamento. J) Detalle de la cutícula fuertemente estriada de la antera. K) Epidermis de la antera. L) Corte transversal de las tecas. M-T) Gineceo. M) Ovario. N) Epidermis papilosa del ovario. O) Corte transversal del ovario. P) Detalle de estilo y estigma. Q) Corte transversal de estilo. R-T) Nectario. R) Nectarostomas anomocíticos. S) Corte transversal de epidermis unistrata y parénquima nectarífero. T) Detalle de tubos laticíferos y parénquima rico en almidón. U, V) Pedúnculo floral. U) Corte transversal

subcircular. V) Detalle de los tejidos. Abreviaturas: a, almidón; bes, braquiesclereidas; c, canal secretor; ca, carpelo; co, colénquima; e, estilo; ep, epidermis; epe, epidermis externa; epi, epidermis interna; en, endotecio; es, estigma; f, floema; ne, nectario; o, ovario; ov, óvulo; p, parénquima; pes, pelos estigmáticos; t, tejido no secretor; tl, tubos laticíferos; ts, tejido secretor; x, xilema.

Fig. 3. *Cuscuta grandiflora*. G, J, M, N, P, R: Scanning electron microscopy. A-F, H, I, K, L, O, Q, S-V: Light microscope. A) Articulated laticifers. B-F) Cross-section. B-D) Sepal. B) Concave-convex outline. C) Detail of epidermis and mesophyll. D) Extremely sharp detail. E, F) Petal. E) Outline with prominences toward the hypophyll. F) Detail of epidermis and mesophyll. G-L) Androecium. G) Bithecal anther. H) Filament epidermis. I) Filament cross-section. J) Detail of the strongly striated anther cuticle. K) Anther epidermis. L) Cross-section of thecae. M-T) Gynoecium. M) Ovary. N) Papillose ovary epidermis. O) Ovary cross-section. P) Detail of style and stigma. Q) Style cross-section. R-T) Nectary. R) Anomocytic nectarostomes. S) Cross-section of unistrate epidermis and nectary parenchyma. T) Detail of laticiferous tubes and starch-rich parenchyma. U, V) Floral peduncle. U) Subcircular cross-section. V) Detail of tissues. Abbreviations: a, starch; bes, brachysclereids; c, secretory canal; ca, carpel; co, collenchymas; e, style; ep, epidermis; epe, outer epidermis; epi, inner epidermis; en, endothecium; es, stigma; f, phloem; ne, nectary; o, ovary; ov, ovule; p, parenchyma; pes, stigmatic hairs; t, non secretory tissue; tl, laticiferous tubes; ts, secretory tissue; x, xylem.

Morfoanatomía del tallo haustorial y autoparasitismo

En sección transversal el tallo es de forma circular con crecimiento primario; la epidermis es unistrata con cutícula estriada y delgada, con estomas al mismo nivel de las células epidérmicas o elevados; esclerénquima subepidérmico formado por dos a cinco estratos de células, internamente dos a cuatro capas de células parenquimáticas, una vaina parenquimática amilífera y una faja esclerenquimática no lignificada (Figs. 4A, B). El tejido vascular se organiza en seis a nueve haces vasculares colaterales con casquete de esclerénquima no lignificado hacia floema. En posición central se evidencia una médula parenquimática (Fig. 4A). Canales secretores se observaron en xilema, los que dieron positivo para compuestos fenólicos (Fig. 4C). Se observa la presencia de granos de almidón dispersos en el parénquima cortical y medular.

El tallo haustorial endofítico forma discos adhesivos laterales en forma de ventosa, que anclan el parásito a la superficie del hospedador; éstos se forman a intervalos en porciones que entran en contacto con la rama huésped (Figs. 4D, E). Desde el centro del disco el haustorio se expande y crece a través de la corteza del hospedante para conectarse con el tejido vascular, tanto xilema como floema (Fig. 4F). En el haustorio se evidencia lignificación en las paredes celulares, el mismo presenta epidermis unistrata, parénquima cortical con abundante almidón y un haz vascular colateral en posición central (Fig. 4F).

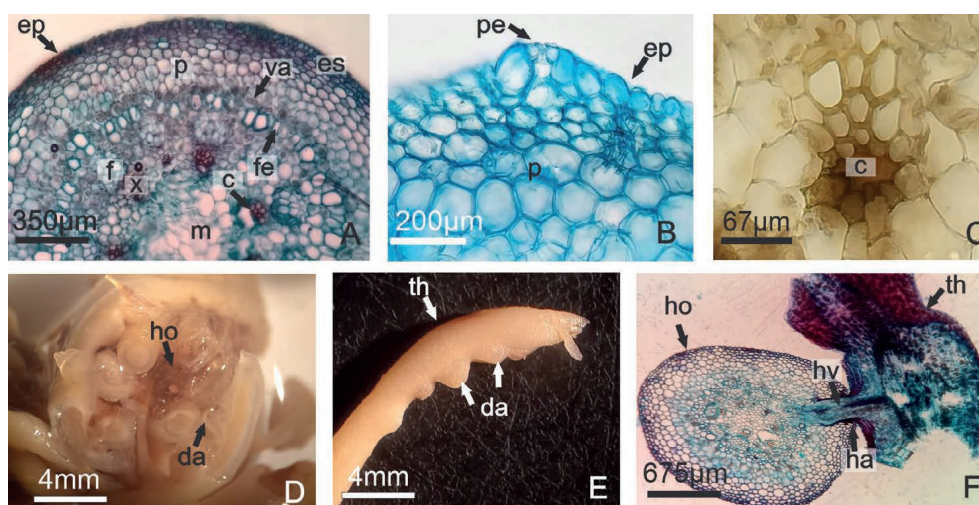


Fig. 4. *Cuscuta grandiflora*. A-C, F: Microscopio óptico. D, E: Estereomicroscopio. A-C) Tallo. A) Corte transversal. B) Detalle de epidermis y corteza. C) Detalle de canal secretor positivo para fenoles. D-F) Tallo haustorial. D) Corte transversal de disco adhesivo, tallo hospedero y autoparasitismo. E) Detalle del disco adhesivo. F) Corte longitudinal del haustorio mostrando autoparasitismo. Abreviaturas: c, canal secretor; da, disco adhesivo; es, esclerénquima; pe, protuberancia estomatífera; f, floema; fe, faja esclerenquimática; ha, haustorio; ho, hospedero; hv, haz vascular; m, médula; p, parénquima; th, tallo haustorial; va, vaina amilífera; x, xilema.

Fig. 4. *Cuscuta grandiflora*. A-C, F: Optical microscope. D, E: Stereomicroscope. A-C) Stem. A) Cross-section. B) Detail of epidermis and cortex. C) Detail of secretory canal positive for phenols. D-F) Stem haustorial. D) Cross-section of adhesive disc, host stem and autoparasitism. E) Detail of adhesive disc. F) Longitudinal section of the haustorium showing autoparasitism. Abbreviations: c, secretory canal; cu, cuticle; es, sclerenchyma; f, phloem; fe, bundle sclerenchyma; ha, haustorium; ho, host; hv, vascular bundle; m, pith; p, parenchyma; pe, stomatiferous protuberance; th, haustorial stem; va, bundle sheath; x, xylem.

Morfología polínica

Los granos son isopolares, radiosimétricos, de ámbito circular y tamaño mediano ($P = 32$ (29) $25 \mu\text{m}$; $E = 34$ (30) $25 \mu\text{m}$). La forma varía de prolato-esferoidal a suboblato ($P/E = 1,1 - 0,84$) (Figs. 5A-F). Se observan granos tetracolpados (64%) (Fig. 5C) a pentacolpados (36%) (Figs. 5A-B). Los colpos son de $24-16 \mu\text{m}$ de largo y $6-2 \mu\text{m}$ de ancho, mesocolpio de 20 (14) $10 \mu\text{m}$ y apocolpio de 12 (10) $5 \mu\text{m}$. La exina es semitectada, microreticulada heterobrocada (lúmenes circulares de $0,1$ a $0,3 \mu\text{m}$, irregulares de $0,1 \times 0,2$ a $0,8 \mu\text{m}$; muros de $0,2$ a $0,5 \mu\text{m}$), con nanoespínulas de $0,2 \mu\text{m}$ de largo distribuidos uniformemente (Figs. 5G-I). El espesor de la exina varía de $2,5 - 1,5 \mu\text{m}$, la nexina $1,2 - 0,7 \mu\text{m}$ y la sexina $1,3- 0,8 \mu\text{m}$. La membrana apertural presenta restos irregulares de sexina.

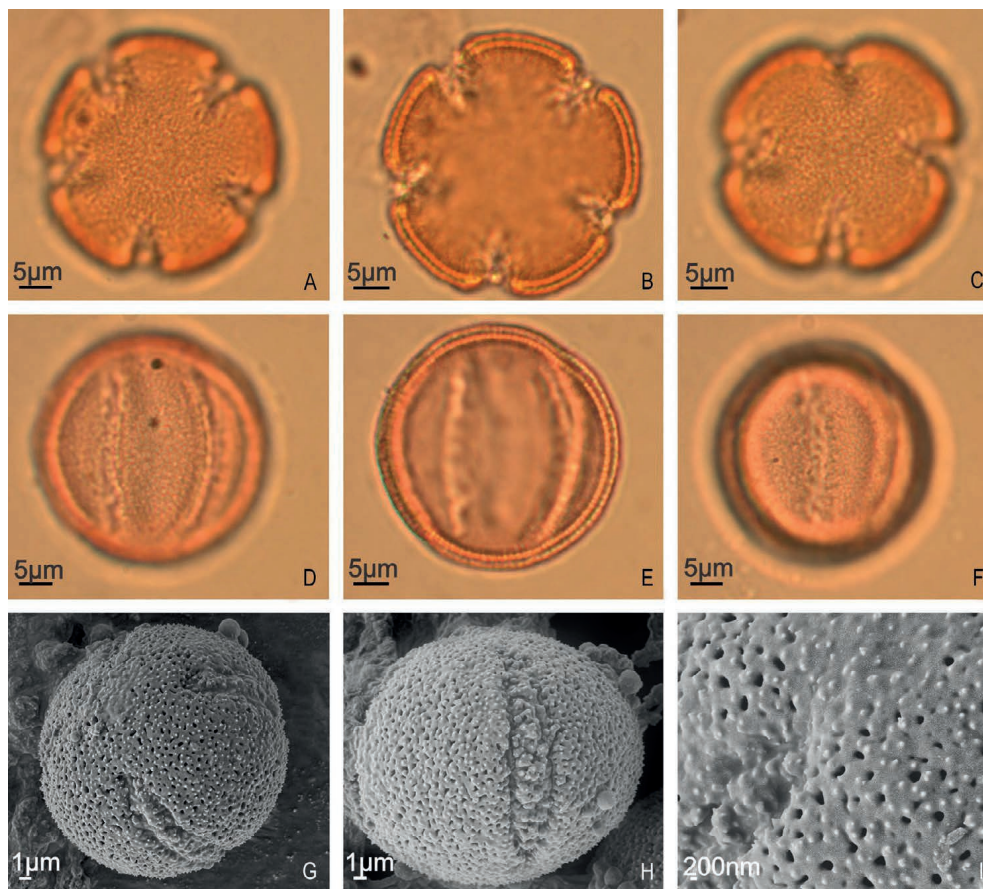


Fig. 5. *Cuscuta grandiflora*. Vista de granos de polen: A-F: Microscopio óptico. G-I: Microscopio electrónico de barrido. A-C) Vista polar. A) Superficie con cinco colpos. B) En corte óptico con cinco colpos. C) En superficie con cuatro colpos. D-F) Vista ecuatorial. D) En superficie. E) En corte óptico. F) En superficie. G) Vista subpolar. H) Vista ecuatorial. I) Detalle de la pared del grano.

Fig. 5. *Cuscuta grandiflora*. A-F: Optical microscope. G-I: Scanning electron microscope. A-C) Polar view. A) Surface with five colpi. B) In optical section with five colpi. C) On surface with four colpi. D-F) Equatorial view. D) On surface. E) In optical section. F) On surface. G) Subpolar view. H) Equatorial view. I) Detail of the grain wall.

Análisis de las secuencias ITS2

Las secuencias ITS2 de *Cuscuta grandiflora* obtenida, al remover los extremos ribosomales, consistió de 212 bases (GenBank accession number: PX403348.1) (Fig. 6). Mientras que, las secuencias de la especie depositadas en las bases de datos, con números de acceso EF194535.1 y OQ411846.1 consistieron de 213 (366 a 472) y 210 (94 a 303) bases, respectivamente (Fig. 6). Los resultados del análisis BLAST mostraron que la secuencia ITS2 presenta mayor similitud con la acceso EF194532.1 (identidad 98,58%, cobertura 100%); la que se corresponde con *C. parodiana* Yunk. La similitud entre esta última especie y la acceso de *C. grandiflora* (PX403348.1) es marcadamente mayor, siendo 96,71% para EF194535.1 y 89,2% para OQ411846.1.

Tabla 1. *Cuscuta grandiflora*: detalles de la estructura secundaria del transcritto primario de ARN del segmento ITS2.**Table 1.** *Cuscuta grandiflora*: details of the secondary structure of the primary RNA transcript of the ITS2 segment.

Estructura	GenBank Accession Numbers					
	EF194535.1 GenBank		OQ411846.1 GenBank		PX403348.1 En este estudio	
	Posición	Secuencia	Posición	Secuencia	Posición	Secuencia
Hélice I						
Bucle	13-14/36-37	UC/AG	12/38-40 17/33	G/GUG A/G	17-18/30-31	CC/UU
Protuberancia	31	U	43	U	---	---
Horquilla	22-27	UGUUUU	22-28	UGUGUUU	22-27	UGUUU
Hélice IIa						
Bucle	50-51/74-65 55-56/69-70	UC/UU AA/GG	51-52/75-76 56/71	UC/UU G/G	---	---
Protuberancia	---	---	---	---	---	---
Horquilla	60-73	ACCU	62-65	UCCU	---	---
Hélice IIb						
Bucle	86/100	C/U	83/106	A/G	79-81/105-107	UAA/AAU
Protuberancia	---	---	101	U	86-86/100-101	UC/UG
Horquilla	92-94	CUU	93-95	CUU	93-95	CUU
Hélice IIIa						
Bucle	113-115/154-155 121/146 124-125/143	CUU/UU G/ G GG/A	118/143 121-122/140	G/G GG/A	115-116/149-150 120/144 123-124/141	UG/GU G/G GG/A
Protuberancia	---	---	---	---	---	---
Horquilla	132-136	GAAGU	129-133	GAAGU	131-135	GAAGU
Hélice IIIb						
Bucle	---	---	---	---	---	---
Protuberancia	---	---	---	---	---	---
Horquilla	167-176	UUGUGGCGGU	164-173	UUGUGGCGGU	---	---
Hélice IV						
Bucle	---	---	---	---	187-188/104	AA/U
Protuberancia	---	---	186	A	---	---
Horquilla	195-197	UGA	193-195	UGA	195-197	UGA

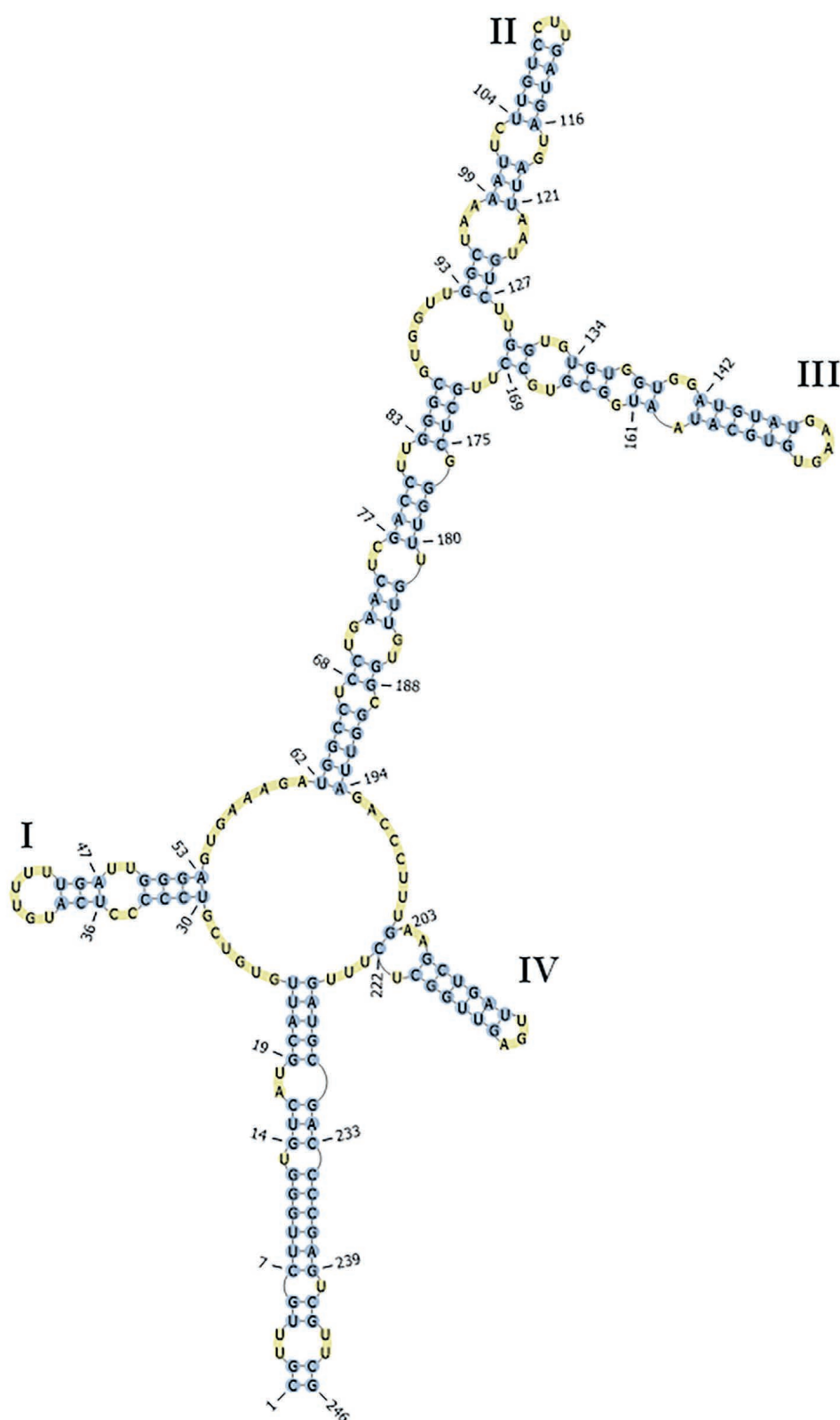


Fig. 7. Estructura secundaria del transcrito primario de ARN del marcador ITS2. Plegamiento de la secuencia de *Cuscuta grandiflora* en estudio.

Fig. 7. Secondary structure of the primary RNA transcript of the ITS2 marker. Folding of the *Cuscuta grandiflora* sequence in this work.

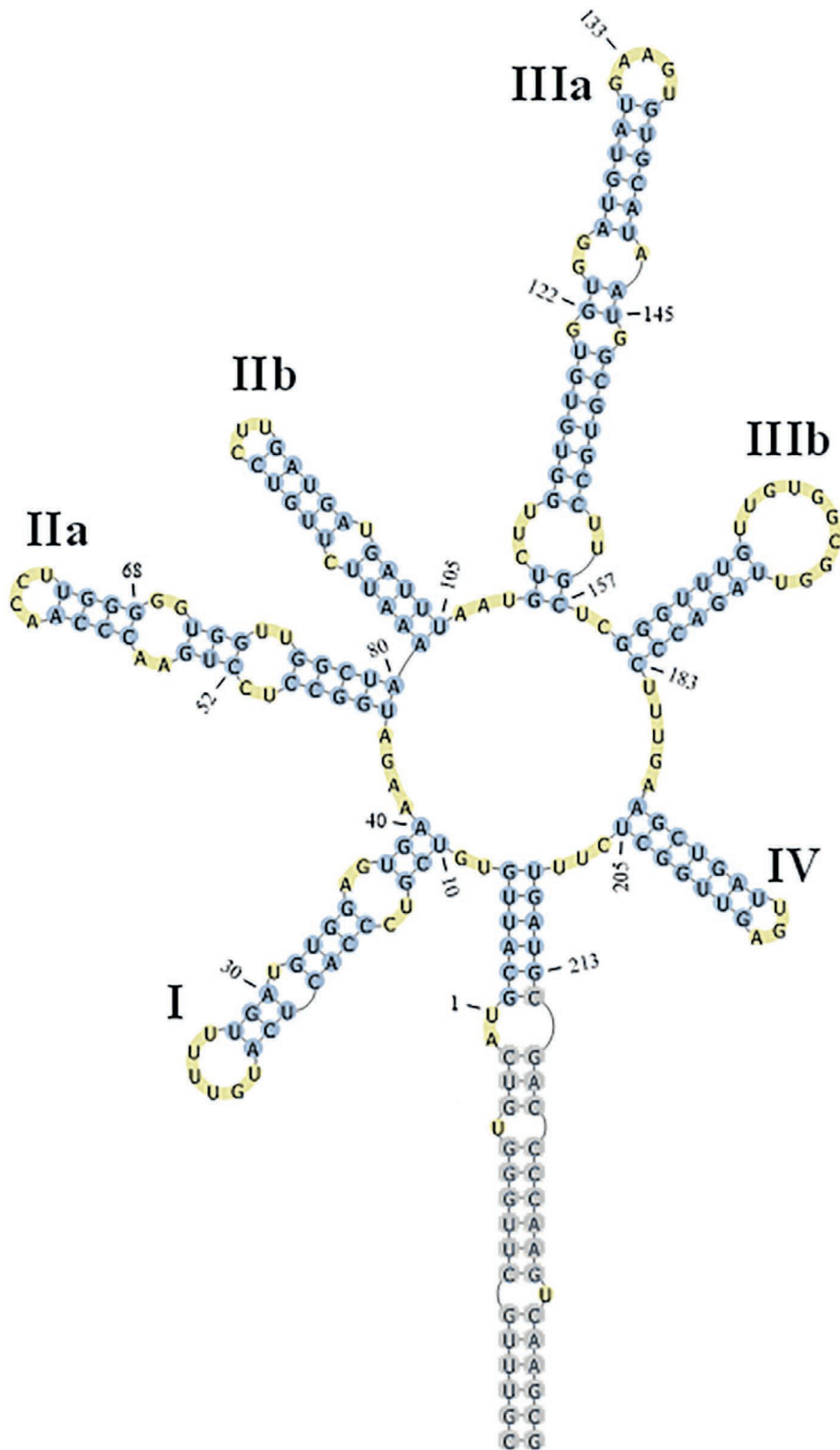


Fig. 8. Estructura secundaria del transcrito primario de ARN del marcador ITS2. Plegamiento en *C. grandiflora* con número de accesoión de GenBank EF194535.1.

Fig. 8. Secondary structure of the primary RNA transcript of the ITS2 marker. Folding in *C. grandiflora* with GenBank accession number EF194535.1.

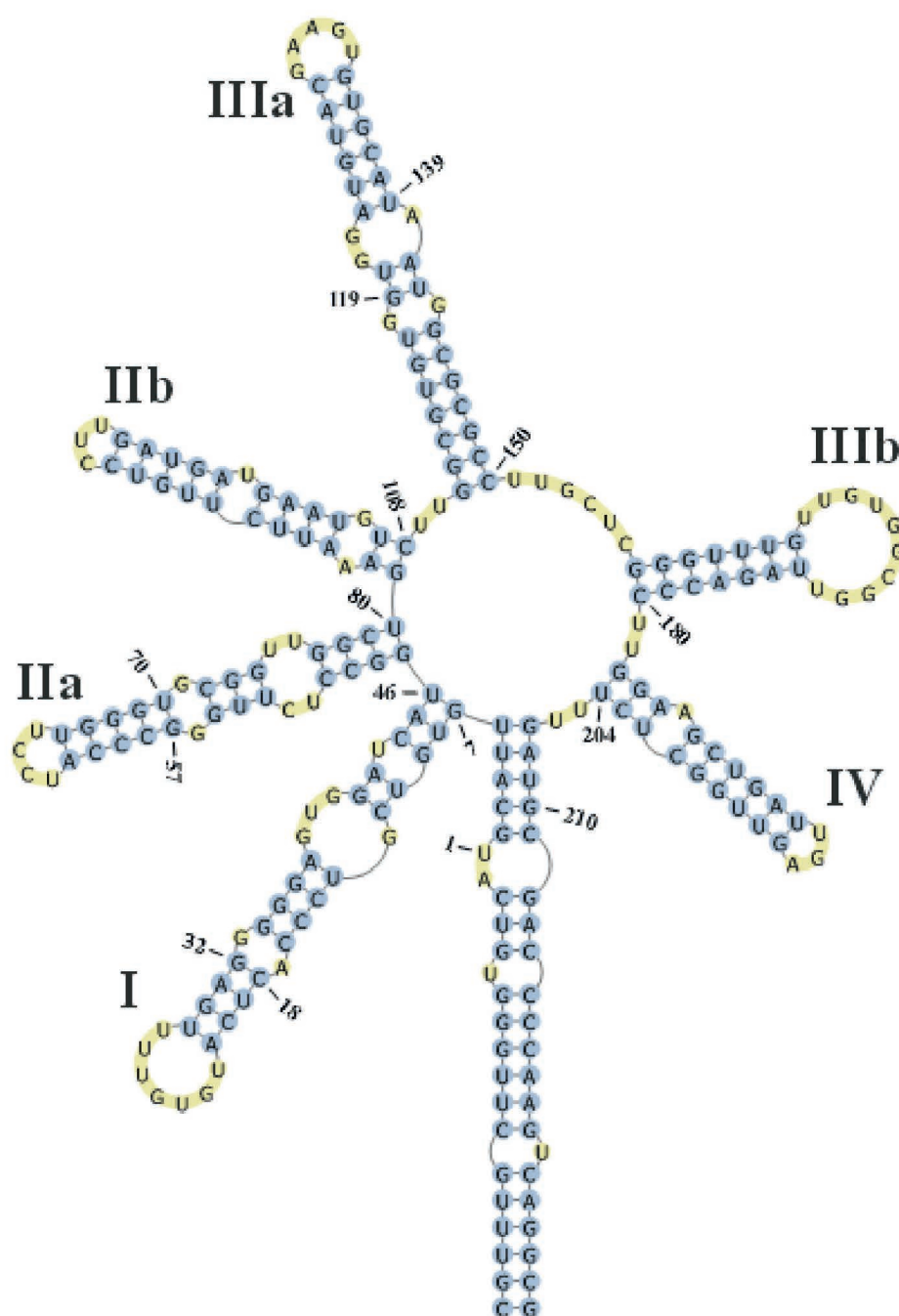


Fig. 9. Estructura secundaria del transcrito primario de ARN del marcador ITS2. Plegamiento en *C. grandiflora* con número de acceso de GenBank OQ411846.1.

Fig. 9. Secondary structure of the primary RNA transcript of the ITS2 marker. Folding in *C. grandiflora* with GenBank accession number OQ411846.1.

DISCUSIÓN

Este trabajo caracteriza la anatomía floral y vegetativa, la morfología polínica, como así también la secuencia y estructura secundaria del ITS2 de *Cuscuta grandiflora*.

La estructura floral de esta especie, referida a la forma de los sépalos, pétalos, estambres, junto al ovario, número y longitud de estilos y estigmas analizadas, es coincidente con las descripciones propuestas por Yuncker (1932) y Hunziker (1947); con excepción de los filamentos estaminales subulados que estuvieron ausentes en el material estudiado y que fueron mencionados por Yuncker (1932) para la especie.

Los sépalos y pétalos de *C. grandiflora* evidenciaron la presencia de fimbrias y dos tipos de tricomas glandulares en los márgenes. Yuncker (1932) y Hunziker (1947), mencionan la presencia de fimbrias en el margen del perianto para la especie; mientras que, Metcalfe y Chalk (1950) citan la presencia de tricomas simples para el género.

La corola y el ovario de *C. grandiflora* poseen epidermis papilosa y cutícula estriada. Estos caracteres anatómicos fueron observados en especies de diferentes clados (Stefanović et al., 2007; Costea y Stefanović 2010; Wright et al., 2011; Costea y Teillier, 2022) tales como en *C. pacifica* Costea & Wright var. *papillata*, *C. californica* Hook. & Arn. var. *papillata*, *C. jepsonii* Yunck. pertenecientes al Clado A; *C. glabrior* (Engelm.) Yunck., *C. runyonii* Yunck. del Clado B; *C. desmouliniana* Yunck. del Clado L; *C. argentinana* Yunck., *C. bella* Yunck., *C. chilensis* Yunck., *C. lucidicarpa* Yunck. del Clado O. Según Wright et al. (2011) las papilas podrían contribuir a la identificación de taxones infraespecíficos.

La ausencia de escamas infraestaminales en este taxón, es un rasgo observado en taxones del subgénero *Grammica*, el cual se interpreta como un detenimiento ontogénico. Según Riviere et al. (2013), dicha condición está vinculada a siete eventos de especiación. La pérdida serviría para simplificar la arquitectura floral, donde la eficiencia y la autofecundación son más ventajosas que la atracción de polinizadores externos (Wright et al., 2011).

La especie estudiada evidenció la presencia de amiloplastos en el pedúnculo floral y en el tallo haustorial; laticíferos en las piezas del perianto, estilo, pedúnculo floral y nectario. Dichos caracteres fueron citados para especies de los diversos clados del subgénero *Grammica* (Wright et al., 2011; Costea y Teillier, 2022).

Asimismo, en la pared del ovario de *C. grandiflora* se observaron nectarostomas anomocíticos, lo cual coincide con lo reportado para el grupo (Wright et al., 2011; Stefanović et al., 2007; Costea y Teillier, 2022), ampliando las descripciones generales de Metcalfe y Chalk (1950).

Con respecto a los estilos, Wright *et al.* (2011) y otros investigadores proponen que la variación en la longitud es polimórfica, con estilos casi reducidos (hasta 0,21 mm, en *Cuscuta reflexa* Roxb., *C. friesii* Yunck., *C. victoriana* Yunck., entre otras), cortos (hasta 0,15 mm, en *C. gigantea* Griff., *C. microstyla* Engelm., *C. argentinana*, entre otras), o largos (hasta 2 mm, en *C. gracillima* Engelm., *C. glomerata* Choisy y *C. polyanthemosa* W. Schaffn. Ex Yunck, entre otras). En *C. grandiflora* son largos (0,48-0,91 mm) de acuerdo a la clasificación de la longitud propuesta por Wright *et al.* (2011). En relación a la anatomía del estilo, es similar a lo descrito por Costea y Tardif (2006) para el género, los cuales describen un estilo sólido, con tejido de transmisión central, laticíferos en el parénquima cortical y ausencia de xilema. Wright *et al.* (2011) describen una estructura similar y mencionan para *C. cotijana* Costea & I. García que la vascularización está representada por el floema, característica propia de los subgéneros *Cuscuta* y *Grammica*; mientras que, el tejido xilemático en el estilo está presente en el subgénero *Monogynella*.

En cuanto a la morfoanatomía del tallo haustorial, *C. grandiflora* es semejante a lo descrito para otras especies del género, la diferencia se encuentra en la forma del tallo en sección transversal, la presencia de cutícula, el número de capas de la corteza y de haces vasculares. Con respecto a los estomas elevados, estos corresponden a protuberancias estomatíferas mencionadas por Clayson *et al.* (2014) en tallos reproductivos del subgénero *Grammica*. Estos autores le otorgan valor sistemático a esta estructura, cuya función sería aumentar la absorción de agua y nutrientes. En *C. grandiflora*, estas protuberancias presentan forma tipo domo de acuerdo a la clasificación de Clayson *et al.* (2014). Toma *et al.* (2004-2005) citan una variedad de formas del tallo, siendo cuadrangular a elíptica en *C. epilinum* Weihe, circular en *C. epithymum* (L.) Nath y elíptica a circular en *C. europaea* L.; Zare y Dönmez (2020) mencionan que *C. campestris* presenta forma redondeada. Lyshede (1985) cita la presencia de laticíferos corticales y perivasculares para *C. campestris* y *C. pedicella*. Costea y Tardif (2006) citan para *Cuscuta* ssp. laticíferos articulados, los que no fueron observados en los tallos de *C. grandiflora*. Pallewar *et al.* (2024) mencionan la presencia de una vaina de almidón rodeando los haces en *C. reflexa*, mientras que en *C. grandiflora* la vaina de almidón se halla rodeando la faja esclerenquimática y está próxima a los haces vasculares. En *C. grandiflora* se evidenció autoparasitismo, fenómeno mencionado por Krasylenko *et al.* (2021) y Chitralkha (2024) para el género, cuya función principal serviría como atajo para la redistribución de savia y nutrientes en la misma planta. En relación al haustorio endofítico, estructuralmente *C. grandiflora* es semejante a otras especies descriptas. En este autoparasitismo el haustorio se conecta con xilema y floema. Numerosos investigadores estudiaron el modo de conexión haustorial con el haz vascular del huésped, mediada por plasmodesmos, denominándose a las conexiones de tipo floicas o xilicas dependiendo de su interacción con elementos floemáticos o xilemáticos, respectivamente (Kim *et al.*, 2014; Kim

y Westwood, 2015; Shahid *et al.*, 2018; Shimizu y Aoki, 2019). Costea y Tardif (2006) mencionan que las conexiones con el floema permiten mayor obtención de nutrientes y compuestos metabólicos primarios (Fer, 1981; Dawson *et al.*, 1994; Haupt y Newmann, 1996; Rothe *et al.*, 1999; Hibberd y Jeschke, 2001).

Con respecto a la morfología polínica, los resultados obtenidos en esta investigación, en cuanto al tamaño y forma de los granos, coinciden con lo descrito por Heusser (1971), Laguardia (1961), Liao *et al.* (2005), Welsh *et al.* (2010) y Romeiro *et al.* (2023). Sin embargo, existen diferencias en la cantidad de endoaperturas, registrándose cuatro a cinco colpos en *C. grandiflora*; mientras que, Welsh *et al.* (2010) reportan de cuatro a seis colpos. Hayrapetyan *et al.* (2024) describieron 38 especies para el género y mencionan granos tres a seis colpados. Es frecuente la presencia de granos con tres colpos en el género, sin embargo, el número es variable y puede llegar hasta 12 colpos (Sengupta, 1972; Liao *et al.*, 2005; Welsh *et al.*, 2010; Romeiro *et al.*, 2023; Hayrapetyan *et al.*, 2024). En cuanto a la superficie del grano de polen, la exina en *C. grandiflora* es microreticulada con nanoespínulas. Para el género, Sengupta (1972) reportó granos reticulados; mientras que, Welsh *et al.* (2010) los describen como imperforado, perforado y microrreticulado. Liao *et al.* (2005) describen a *C. campestris* como finamente reticulada y Romeiro *et al.* (2023) describieron a *C. insquamata* como microreticulada. Para Welsh *et al.* (2010) las especies que exhiben una condición de microretículo se consideran más evolucionadas que las especies que presentan tectum imperforado y perforado, condición reconocida como ancestral. Respecto de los procesos supratectales, Liao *et al.* (2005) describen procesos escabrados, mientras que Demir *et al.* (2017) escabrados-perforados y Romeiro *et al.* (2023) como microequinados. Demir *et al.* (2017) observaron en la superficie del grano de *C. lupuliformis* un retículo y en *C. monogyna* un retículo equinado, especies morfológicamente similares a *C. grandiflora*. El término escabroso se reserva para descripciones basadas en MO, en tanto se utiliza microespinulados o nanoespinulado para descripciones en MEB (Hesse *et al.*, 2009).

Con respecto al análisis molecular de las secuencias ITS2, la dificultad en la determinación taxonómica entre las especies del género *Cuscuta* se refleja en los datos moleculares depositados en el GenBank. En esta investigación se utilizó la información de la base de datos (Stefanović *et al.*, 2007) para realizar el análisis BLAST y se obtuvo un 100% de similitud entre las secuencias ITS2 de *C. grandiflora* y *C. globiflora*. Este porcentaje de similitud indica una determinación taxonómica errónea por la posible contaminación del material.

Para la accesión EF194535.1 de *C. grandiflora* se registró un plegamiento del transcripto de ARN-ITS2 en el repositorio ITS2-database. Este plegamiento exhibió cuatro hélices, lo cual contrasta con la estructura de seis hélices obtenida para la misma accesión. Estas diferencias pueden deberse a que la estructura secundaria registrada en ITS2-database se moldeó me-

dian­te el método de homología. En este método, el software tomó como referencia la estructura secundaria del ARN-ITS2 de otra especie afín (en este caso *C. japonica* Choisy). Contrariamente, en este trabajo el plegado se realizó mediante el método de plegamiento directo a partir de la secuencia ITS2 de la accesión EF194535.1, usando el software RNAfold, el cual resultó en una estructura de seis hélices. Otro factor que podría explicar el contraste entre los plegamientos es que en el análisis se incluyeron dos segmentos de ARN de 17 bases en los flancos de la secuencia ITS2, los cuales son parte de los genes 5,8S y 25S como se muestra en la Fig. 6. Estos segmentos se hibridan en doble hélice, siendo esenciales para el correcto plegamiento y funcionalidad de los segmentos pre-ribosómicos ITS2, en concordancia con lo citado por Keller *et al.* (2009). Cabe destacar que la base de datos ITS2 no hibridiza los segmentos del tallo, lo cual pudo ser la causa de las diferencias observadas.

Demir *et al.* (2020) investigaron la estructura secundaria de segmentos pre-ribosomales en especies del género *Cuscuta*, excluyendo a *C. grandiflora*. Para ello, emplearon una porción de ARN que abarcaba las regiones TS1/5.8S/ITS2. Sin embargo, sus análisis no lograron un plegamiento preciso de la región ITS2. Lo esperable en este intrón es una estructura compuesta por un bucle central con cuatro o seis hélices, la cual estuvo ausente en sus resultados. Es probable que la inexactitud del plegamiento sea debido a una delimitación incorrecta del segmento ITS2. Demir *et al.* (2020) utilizaron amplicones que incluían una porción del ARN ribosomal 25S, significativamente mayor a la descrita por Keller *et al.* (2009), necesarias para el plegado del tallo híbrido, con aproximadamente 60 bases adicionales en lugar de las 17 que componen la hélice híbrida. Estas bases excedentes podrían haber interactuado con las de la secuencia ITS2, resultando en estructuras secundarias erróneas.

La divergencia observada entre las secuencias obtenidas en *C. grandiflora* y sus estructuras secundarias, comparadas con aquellas de las bases de datos, destaca la importancia de una identificación taxonómica rigurosa en este género tan intrincado. La complejidad de *Cuscuta* radica en la reducción o pérdida de sus órganos vegetativos, lo que dificulta su identificación con base en la morfología. Un ejemplo de esta problemática se observa al analizar la accesión EF194535.1 de *C. grandiflora*, la cual comparte una identidad del 100% con la secuencia de *C. parodiana* (accesión EF194532.1), una vez que el segmento ITS2 es purificado. Stefanović *et al.* (2007) utilizaron las accesiones antes mencionadas sin purificar el segmento ITS2, diferenciando estas dos secuencias como especies distintas.

La incompatibilidad observada entre las secuencias del ITS2 de *C. grandiflora* podría deberse a que cada una de ellas representa haplotipos diferentes de este marcador. Sin embargo, esta hipótesis es poco probable, ya que las secuencias individuales de las accesiones analizadas muestran una mayor similitud con *C. parodiana*, *C. globiflora* y *C. cockerellii*, que con las propias secuencias de *C. grandiflora*.

CONCLUSIÓN

Se describe la morfoanatomía floral, grano de polen y tallo haustorial de *Cuscuta grandiflora*. Se evidenció el autoparasitismo, donde la conexión del haustorio se manifiesta con ambos tejidos conductores: xilema y floema. Desde el punto de vista molecular, por primera vez se llevó a cabo el plegamiento directo del transcripto primario de ARN del marcador ITS2 para *C. grandiflora*. Cabe destacar que la estructura secundaria de ITS2 se modifica al incorporar el tallo híbrido 5,8S-25S durante el plegamiento. Además, se corroboró la existencia de estructuras secundarias diversas del ARN-ITS2 en el género *Cuscuta*, de modo que las especies aquí analizadas son homólogas por la presencia de cuatro brazos. Estos aportes establecen un marco de referencia clave para futuros estudios taxonómicos y filogenéticos de las especies del género en nuestra región.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Fundación Miguel Lillo por el apoyo durante los viajes de colección y lugar de trabajo. A la Sra. Lizárraga C. C. y la Lic. Bordon L. por su colaboración técnica. El trabajo fue financiado por el proyecto CUP: BI-0031-1

CONTRIBUCION DE LOS AUTORES

Páez, Valeria de los A.: conceptualización, adquisición del material, análisis formal, investigación, redacción del borrador original, revisión y edición. **Ruiz, Ana I.:** análisis formal, investigación, metodología, redacción del borrador original, revisión y edición. **Andrada, Aldo R.:** adquisición del material, análisis formal, investigación, redacción del borrador original, revisión y edición. **Reyes, Nora J. F.:** análisis formal, investigación, metodología, redacción del borrador original. **Espeche, María L.:** análisis formal, investigación, metodología, redacción del borrador original. **Albornoz, Patricia L.:** conceptualización, análisis formal, redacción del borrador original, revisión y edición.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflictos de interés entre ellos o con terceros.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrada, A. R., Páez, V. de los A., Silenzi Usandivaras, G. M., Tebbitt, M. C., Albornoz P. L. y Vellicce G. R. (2022). Genetic characterization and pollen viability of a natural hybrid of *Begonia boliviensis* × *B. micranthera* (Begoniaceae) from Argentina. *Botany Letters* 170 (2): 1-17. <https://doi.org/10.1080/23818107.2022.213502>
- Ankenbrand, M. J., Keller, A., Wolf, M., Schultz, J. y Förster, F. (2015). ITS2 database V: Twice as much. *Molecular Biology and Evolution* 32 (11): 3030-3032. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv174>
- Braukmann, T., Kuzmina, M. y Stefanović, S. (2013). Plastid genome evolution across the genus *Cuscuta* (Convolvulaceae): two clades within subgenus *Grammica* exhibit extensive gene loss. *Journal of Experimental Botany* 64 (4): 977-989. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers391>
- Byun, Y. y Han, K. (2009). PseudoViewer3: generating planar drawings of large-scale RNA structures with pseudoknots. *Bioinformatics* 25 (11): 1435-1437. <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp252>
- Chen, S. L., Yao, H., Han, J. P., Liu, C., Song, J. Y., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Jia, X., Lin, Y. y Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE* 5: e8613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Chitralkha, P., Rani, A., Katyal, R., Mathur, R. y Gulati, S. (2022). *Cuscuta reflexa* Roxb. Parasitism: The Development of Haustorium. *Phytomorphology* 72 (3&4): 55-68. <https://doi.org/10.56024/ispm.72.3&4.2022/55-68>
- Chitralkha, P. (2024). Hyperparasitism in *Cuscuta reflexa* Roxb.: A structural study. *Phytomorphology* 74: 21-39. <https://doi.org/10.56024/ispm.74.1ampersand2.2024/21-39>
- Clayson, C., García-Ruiz, I. y Costea, M. (2014). Diversity, evolution, and function of stomata bearing structures in *Cuscuta* (dodders, Convolvulaceae): From extrafloral nectar secretion to transpiration in arid conditions. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 16 (6): 310-321. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2014.08.004>
- Costea, M. y Tardif, F. J. (2006). The biology of Canadian weeds. 133. *Cuscuta campestris* Yuncker, *C. gronovii* Willd. ex Schult., *C. umbrosa* Beyr. ex Hook., *C. epithymum* (L.) and *C. epilinum* Weihe. *Biology Faculty Publications* 86 (1): 293-316. <https://doi.org/10.4141/P04-077>
- Costea, M. y Stefanović, S. (2010) Evolutionary history and taxonomy of *Cuscuta umbellata* complex (Convolvulaceae): evidence of extensive hybridization from discordant nuclear and plastid phylogenies. *Taxon* 59 (6): 1783-1800. <https://doi.org/10.1002/tax.596011>
- Costea, M., García, M. A. y Stefanović, S. (2015). A phylogenetically based infrageneric classification of the parasitic plant genus *Cuscuta* (dodders, Convolvulaceae). *Systematic Botany* 40 (1): 269-285. <https://doi.org/10.1600/036364415X686567>

- Costea, M., Soares da Silva, S., Simao-Bianchini, R., Simoes, A. R. G. y Stefanovic, S. (2021). Notes on the systematics of *Cuscuta* sect. *Subulatae* (subg. *Grammica*) with the description of *Cuscuta mantiqueirana*, a new species from Brazil. *PhytoKeys* 184: 27-44. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.184.69037>
- Costea, M. y Teillier, S. (2022). Taxonomic revision of *Cuscuta* (Convolvulaceae) in Chile. *Gayana Botanica* 79 (2): 84-106. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432022000200084>
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur, S.A. Buenos Aires, Argentina.
- Dawson, J. H., Musselman, L. J., Wolswinkel, P. y Dör, I. (1994). Biology and control of *Cuscuta*. *Review of Weed Science* 6: 265-317.
- Demir, I., Kaya, I., Benli, M. y Altinoglu, M. K. (2017). Investigation of Palinological Features of Taxa Belonging to the Genus *Cuscuta* Distributed in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology* 19 (4): 746-750. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0349>
- Demir, I., Kaya, I., Musta, M. y Sipahioglu, H. M. (2020). Molecular phylogeny based on its sequences of nrDNA of some species belonging to dodder (*Cuscuta* L.) genus from various ecological sites of Turkey. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48 (3): 1332-1340. <https://doi.org/10.15835/nbha48311997>
- Dizeo de Strittmater, C. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.
- Erdtman, G. (1960). The acetolysis method: A revised description. *Svensk botanisk tidskrif* 54: 561-564.
- Fer, A. (1981). Research on the pathway of transport involved in the nutrition of a parasite phanerogamus. A study on isolated leaves parasitized by *Cuscuta*. *Physiologie végétale* 19: 177-196.
- García, M. A., Costea, M., Kuzmina, M. y Stefanović, S. (2014). Phylogeny, character evolution, and biogeography of *Cuscuta* (dodders; Convolvulaceae) inferred from coding plastid and nuclear sequences. *American Journal of Botany* 101 (4): 670-90. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300449>
- Gouy, M., Guindon, S. y Gascuel, O. (2010). SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* 27 (2): 221-224. <http://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Grajales, A., Aguilar, C. y Sánchez, J. A. (2007). Phylogenetic reconstruction using secondary structures of Internal Transcribed Spacer 2(ITS 2, rDNA): finding the molecular and morphological gap in the caribbean gorgonian corals. *BMC Evolution Biology* 7: 90. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-90>
- Haupt, S. y Newmann, S. (1996). Transfer of assimilates and xenobiotics from host plants to the parasite *Cuscuta reflexa* Roxb. En: M. T. Moreno, J. I. Cubero, D. Berner, D. Joel, L. J. Musselman and C. Parker

- (Eds.), *Advances in parasitic plant research*. (pp. 355-364). Córdoba, España: Junta de Andalucía, Dirección General de Investigación Agraria.
- Hayrapetyan, A., Sonyan, H. y Muradyan, A. (2024). Palynological studies of some species of the genus *Cuscuta* with emphasis on taxonomy. *Acta Palaeobotanica* 64 (1): 60-74. <https://doi.org/10.35535/acpa-2024-0005>
- Heslop-Harrison, J. y Heslop-Harrison, Y. (1981). The specialized cuticles of stigma papillae. En: D. F. Cutler (Ed.), *The plant cuticle*. Botanical Journal of Linnean Society (pp. 99-119). London: Academic Press Ediciones.
- Hesse, M., Halbritter, H., Zetter, R., Weber M., Buchner, R., Frosch-Radivo, A. y Ulrich, S. (2009). Pollen terminology an illustrated handbook. – Springer Wien New York, Vienna University Press. <https://doi.org/10.1007/978-3-211-79894-2>
- Heusser, C. I. (1971). Pollen and spores of Chile. Modern types of the Pteridophyta, Gymnospermae and Angiospermae. Tucson, Arizona. University Arizona Press.
- Hibberd, J. M. y Jeschke, W. D. (2001). Solute flux into parasitic plants. *Journal of Experimental Botany* 52 (363): 2043-2049. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.363.2043>
- Hong, L., Shen, H., Chen, H., Li, L., Hu, X., Xu, X., Ye, W. y Wang, Z. (2011). The morphology and anatomy of the haustoria of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta campestris*. *Pakistan Journal of Botany* 43 (4): 1853-1859. [https://mail.pakbs.org/pjbot/PDFs/43\(4\)/PJB43\(4\)1853.pdf](https://mail.pakbs.org/pjbot/PDFs/43(4)/PJB43(4)1853.pdf)
- Hunziker, A. T. (1947). Sinopsis de las especies argentino - uruguayas del género *Cuscuta*. *Revista Argentina de Agronomía* 14 (2): 123-147.
- Hunziker, A. T. (1949). Las especies de *Cuscuta* (Convolvulaceae) de Argentina y Uruguay. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas, y Naturales* 12 (4): 1101-1202.
- Karnovsky, M. J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. *Journal of Cell Biology* 27 (2): 137-138.
- Keller, A., Schleicher, T., Schultz, J., Müller, T., Dandekar, T. y Wolf, M. (2009). 5.8S-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation. *Gene* 430 (1-2): 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.10.012>
- Kim, G., Leblanc, M. L., Wafula, E. K., Depamphilis, C. W. y Westwood, J. H. (2014). Genomic-scale exchange of mRNA between a parasitic plant and its hosts. *Science* 345: 808. <https://doi.org/10.1126/science.1253122>
- Kim, G. y Westwood, J. H. (2015). Macromolecule exchange in *Cuscuta*–host plant interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 26: 20-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.012>
- Krasylenko, Y., Těšitel, J., Ceccantini, G., Oliveira da Silva, M., Dvořák, V., Steele, D., Sosnovsky, E., Piwowarczyk, R., Watson, D. y Teixeira-Costa, L. (2021). Parasites on parasites: hyper-, epi-, and autoparasitism among flowering plants. *American Journal of Botany* 108 (1): 1-14. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1590>

- Kuijt, J. (1969). The biology of parasitic flowering plants. University of California Press, Ltd.
- Laguardia, A. M. (1961). Morfología del grano de polen de algunas Convolvulaceas Uruguayas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 9: 187-197.
- Lee, K. B. y Lee, C. D. (1989). The structure and development of the haustorium in *Cuscuta australis*. *Canadian Journal of Botany* 67 (10): 2975-2982. <https://doi.org/10.1139/b89-381>
- Lee, K. B. (2007). Structure and development of the upper haustorium in the parasitic flowering plant *Cuscuta japonica* (Convolvulaceae). *American Journal of Botany* 94 (5): 737-45. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.5.737>
- Liao, G. I., Chen, M. Y. y Kuoh, C. S. (2005). Pollen morphology of *Cuscuta* (Convolvulaceae) in Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 46 (1): 75-81. <https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2005/1/Bot461-10.pdf>
- Lorenz, R., Bernhart, S. H., Höner zu Siederdisen, C., Tafer, H., Flamm, C., Stadler, P. F. y Hofacker, I. L. (2011). ViennaRNA Package 2.0. *Algorithmis of Molecular Biology* 6: 1-14. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26>
- Lyshede, O. B. (1985). Morphological and anatomical features of *Cuscuta pedicellata* and *C. campestris*. *Nordic Journal of Botany* 5 (1): 65-77.
- McNeal, J. R., Arumugunathan, K., Kuehl, J. V., Boore, J. L. y De Pamphilis C. W. (2007). Systematics and plastid genome evolution of the cryptically photosynthetic parasitic plant genus *Cuscuta* (Convolvulaceae). *BMC Biology* 5: 55. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-5-55>
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. C. (1950). Anatomy of the Dicotyledons. Vol. II. Oxford, Clarendon Press.
- Merget, B., Koetschan, C., Hackl T., Förster, F., Dandekar T., Müller, T., Schultz, J. y Wolf M. (2012). The ITS2 Database. *Journal of Visualized Experiments* 12 (61): 3806. <https://doi.org/10.3791/3806>
- Pallewar, A., Tidke, S., Urdukhe, Y. y Mogle, U. (2024). Integrating morphology, anatomy, and preliminary phytochemistry for distinguishing *Cuscuta reflexa* and *Ziziphus jujuba*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 13 (2): 229-232. <https://doi.org/10.22271/phyto.2024.v13.i2c.14883>
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S. y Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 143: 1-81. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2006.06.008>
- Riviere, S., Clayson, C., Dockstader, K., Wright, M. A. y Costea, M. (2013). To attract or to repel? Diversity, evolution and role of the “most peculiar organ” in the *Cuscuta* flower (dodder, Convolvulaceae)—the infrastaminal scales. *Plant Systematics and Evolution* 299 (3): 529-552. <https://doi.org/10.1007/s00606-012-0741-2>
- Romeiro, L. D. A., Da Silva, E. F., Vasconcelos, L. V., Lopes, K. D. S., Carreira, L. M. M. y Guimarães, J. T. F. (2023). Pollen Morphology of

- Convolvulaceae from Southeastern Amazonian Cangas and Its Relevance for Interaction. *Networks and Paleoenvironmental Studies. Plants* 12: 2256. <https://doi.org/10.3390/plants12122256>
- Rothe, K., Diettrich, B., Rahfeld, B. y Luckner, M. (1999). Uptake of phloem-specific cardenolides by *Cuscuta* sp. growing on *Digitalis lanata* and *Digitalis purpurea*. *Phytochemistry* 51 (3): 357-361. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00749-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00749-3)
- Sáenz Laín, C. (2004). Glosario de Términos Palinológicos. *Lazaroa* 25: 93-112.
- Shahid, S., Kim, G., Johnson, N. R., Wafula, E., Wang, F., Coruh, C., Bernal-Galeano, V., Phifer, T., De Pamphilis, C. W., Westwood, J. H. y Axtell M. J. (2018). MicroRNAs from the parasitic plant *Cuscuta campestris* target host messenger RNAs. *Nature* 553: 82-95. <https://doi.org/10.1038/nature25027>
- Sengupta, S. (1972). On the pollen morphology of convolvulaceae with special reference to taxonomy. *Review Palaeobotany Palynology* 13: 157-212.
- Schultz, J. y Wolf, M. (2009). ITS2 sequence structure analysis in phylogenetics: a how-to manual for molecular systematics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52 (2): 520-523. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.01.008>
- Shimizu, K. y Aoki, K. (2019). Development of parasitic organs of a stem holoparasitic plant in genus *Cuscuta*. *Frontiers in plant Science* 10: 1435. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01435>
- Stefanović, S., Kuzmina, M. y Costea, M. (2007). Delimitation of Major Lineages within *Cuscuta* Subgenus *Grammica* (Convolvulaceae) using Plastid and Nuclear DNA Sequences. *American Journal of Botany* 94 (4): 568-589. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.4.568>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. y Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30 (12): 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Toma, C., Andronache, A. y Toma, I. (2004-2005). Histo-anatomical investigations on some *Cuscuta* species. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology* 49-50: 41-46. <https://www.ibiol.ro/plant/volumes%2049-50/Rom.J.Biol.-Plant%20Biol.,%202007,%20v.49-50,%20pp.41-46.pdf>
- Welsh, M., Stefanović, S. y Costea, M. (2010). Pollen evolution and its taxonomic significance in *Cuscuta* (dodders, Convolvulaceae). *Plant Systematic and Evolution* 285: 83-101. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0259-4>
- Wright, M. A. R., Welsh, M. y Costea, M. (2011). Diversity and evolution of the gynoecium in *Cuscuta* (dodders, Convolvulaceae) in relation to their reproductive biology: Two styles are better than one. *Plant Systematics and Evolution* 296 (1): 51-76. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0476-5>

- Wodehouse, R. P. (1935). Pollen grains. Their structure, identification and significance in science and medicine. New York: Mc Graw-Hill.
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Han, J., Li, Y. y Chen, S. (2010). Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. *Plos one* 5 (10): e13102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013102>
- Yuncker, T. G. (1932). The genus *Cuscuta*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 18: 113-331.
- Yuncker, T. G. (1943). Observations on the presence of stomata in some species of *Cuscuta*. *Proceedings of the Indiana Academy of Science* 53: 100-104.
- Zare, G. y Dönmez, A. (2020). *Cuscuta campestris* Yunck. Morphology, Anatomy and Traditional Use in Turkey. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* 40 (1): 1-10.
- Zarlavsky, G. E. (2014). Histología Vegetal: Técnicas simples y complejas. Sociedad Argentina de Botánica. Buenos Aires, Argentina.