



FACULTAD DE
AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

**ORGANOGENESIS REPRODUCTIVA
EN LA MALEZA FITOPARASITA
Cuscuta obtusiflora H.B.K. (CUSCUTACEAE).**

por

Martín Angel RODRIGUEZ PONTES

T E S I S

2001

MONTEVIDEO

URUGUAY



**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**ORGANOGENESIS REPRODUCTIVA EN LA MALEZA
FITOPARASITA *Cuscuta obtusiflora* H.B.K. (CUSCUTACEAE).**

por

Martín Angel RODRIGUEZ PONTES

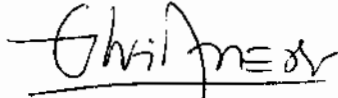
TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2001**

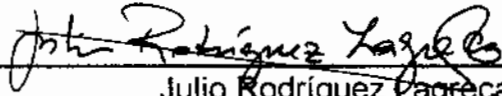
PAGINA DE APROBACION

Tesis aprobada por:

Director:



Gloria Daners Chao



Julio Rodríguez Lagreca



Esteban Graf Müller

Fecha:

09 MAR 2001

Autor:



Martín Ángel Rodríguez Pontes

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Gloria Daners por haber accedido a la dirección del presente trabajo con interés y dedicación.

Al Ing. Agr. (M.Sc.) Julio Rodríguez y al Ing. Agr. (Dr.) Esteban Graf por el interés y seguimiento en la concreción del presente trabajo de tesis.

Al Ing. Agr. (M.Sc.) Carlos Perea por las continuas y permanentes facilidades de acceso bibliográfico brindadas durante todas las etapas de ejecución de este trabajo.

Al Lic. Alejandro Spiritoso por los valiosos servicios prestados.

A la Dra. Lina Bettucci y su equipo por las facilidades brindadas.

A las siguientes personas que de una u otra forma han colaborado durante las diferentes etapas de la realización del presente trabajo:

Egr. Agr. Ismael Fariña

Lic. (M.Sc.) Mario Piaggio

Lic. Pedro Dilascio Soler

Ing. Agr. Gastón Cajigas

Lic. Sandra Soria

Por último pero no menos importante, a mis padres: Martín y María del Carmen.

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE ILUSTRACIONES	VII
1 - <u>INTRODUCCION</u>	1
1.1 - <u>OBJETIVO GENERAL</u>	1
1.2 - <u>OBJETIVOS ESPECIFICOS</u>	1
2 - <u>REVISION BIBLIOGRAFICA</u>	2
2.1 - <u>FANEROGAMAS PARASITAS</u>	2
2.1.1 - FITOPARASITISMO	2
2.1.2 - PLANTAS PARASITAS: GRUPOS TAXONOMICOS	2
2.1.2.1 - <u>Holoparasitas</u>	3
2.1.2.1.1 - Muérdagos	3
2.1.2.1.2 - Parásitos de raíces	3
2.1.2.1.3 - Parásitos caulinares no fotosintetizadores	4
2.1.2.2 - <u>Hemiparasitas</u>	4
2.2 - <u>CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS FANEROGAMAS PARASITAS</u>	4
2.3 - <u>FANEROGAMAS PARASITAS DE MAYOR INCIDENCIA ECONOMICA</u>	5
2.3.1 - <u>OROBANCHE</u> (OROBANCHACEAE)	5
2.3.2 - <u>STRIGA</u> (SCROPHULARIACEAE)	5
2.3.3 - <u>CUSCUTA</u> (CUSCUTACEAE)	5
2.4 - <u>CUSCUTA: CONSIDERACIONES TAXONOMICAS</u>	6
2.5 - <u>CUSCUTA: ORGANOLOGIA Y ANATOMIA</u>	8
2.5.1 - HABITO	8
2.5.2 - SISTEMA RADICULAR	8
2.5.3 - HAUSTORIOS	9
2.5.4 - SISTEMA CAULINAR	9
2.5.5 - ESTRUCTURAS FOLIARES	9
2.5.6 - INFLORESCENCIA	9
2.5.7 - FLOR	9
2.5.8 - FRUTO	10
2.5.9 - SEMILLA	10
2.5.10 - EMBRION	10
2.5.11 - NUMERO CROMOSOMICO	10
2.6 - <u>BIOLOGIA DEL GENERO CUSCUTA</u>	11
2.6.1 - <u>BIOLOGIA DEL DESARROLLO</u>	11
2.6.1.1 - <u>Germinación/emergencia</u>	11
2.6.1.2 - <u>Establecimiento del parasitismo</u>	11
2.6.1.3 - <u>Características epidemiológicas</u>	13
2.6.2 - <u>CONSIDERACIONES FISIOLÓGICAS</u>	14
2.6.2.1 - <u>Actividad fotosintética</u>	14
2.6.2.2 - <u>Autotrofismo/heterotrofismo</u>	15
2.6.2.3 - <u>Translocación de solutos</u>	15
2.6.3 - <u>BIOLOGIA REPRODUCTIVA Y PROPAGACION</u>	16
2.6.3.1 - <u>Biología floral</u>	16
2.6.3.2 - <u>Requerimientos fotoperiódicos</u>	16
2.6.3.3 - <u>Período de floración</u>	16

2.6.3.4 - <u>Diseminación seminal</u>	17
2.6.3.5 - <u>Características germinativas</u>	17
2.6.3.6 - <u>Propagación vegetativa</u>	19
2.6.4 - RELACIONES HUESPED-PARASITO	19
2.6.4.1 - <u>Monofagia/polifagia</u>	19
2.6.4.2 - <u>Implicancias virológicas y microbiológicas</u>	20
2.7 - <u>CUSCUTA: MARCO LEGAL VIGENTE</u>	20
2.7.1 - LEGISLACION INTERNACIONAL	20
2.7.2 - LEGISLACION NACIONAL	21
2.8 - <u>UTILIDADES Y USOS DEL GENERO CUSCUTA</u>	21
2.9 - <u>EL GENERO CUSCUTA EN URUGUAY</u>	22
2.10 - <u>CUSCUTA OBTUSIFLORA</u>	
Humboldt, Bonpland & Kunth	24
2.10.1 - SITUACION EN URUGUAY	24
2.10.2 - DESCRIPCION BOTANICA	25
3 - <u>MATERIALES Y METODOS</u>	28
4 - <u>RESULTADOS</u>	29
4.1 - <u>SISTEMA FLORAL</u>	29
4.1.1 - CALIZ Y COROLA	29
4.1.2 - ANDROCEO	30
4.1.2.1 - <u>Antera</u>	30
4.1.2.2 - <u>Microsporogénesis</u>	32
4.1.2.3 - <u>Desarrollo del microgametofito</u>	32
4.1.2.4 - <u>Grano de polen</u>	32
4.1.3 - GINECEO	33
4.1.3.1 - <u>Ovario</u>	33
4.1.3.2 - <u>Ovulo</u>	33
4.1.3.3 - <u>Megasporogénesis</u>	34
4.1.3.4 - <u>Desarrollo del megagametofito</u>	34
4.1.3.5 - <u>Saco embrionario</u>	34
4.1.4 - SISTEMA REPRODUCTIVO	36
4.2 - <u>SISTEMA SEMINAL</u>	37
4.2.1 - ETAPA CIGOTICA	37
4.2.1.1 - <u>Fecundación</u>	37
4.2.1.2 - <u>Cubiertas ovulares</u>	
(transición óvulo-semilla)	37
4.2.2 - ETAPA PROEMBRIONAL	39
4.2.2.1 - <u>Proembrión</u>	39
4.2.2.2 - <u>Endosperma</u>	39
4.2.2.3 - <u>Cubiertas seminales</u>	40
4.2.3 - ETAPA EMBRIONAL GLOBULAR	42
4.2.3.1 - <u>Embrión</u>	42
4.2.3.2 - <u>Endosperma</u>	43
4.2.3.3 - <u>Cubiertas seminales</u>	43
4.2.4 - ETAPA EMBRIONAL TRANSICIONAL	45
4.2.4.1 - <u>Embrión</u>	45
4.2.4.2 - <u>Endosperma</u>	45
4.2.4.3 - <u>Cubiertas seminales</u>	45
4.2.5 - ETAPA EMBRIONAL INCURVADA	46
4.2.5.1 - <u>Embrión</u>	46
4.2.5.2 - <u>Endosperma</u>	47
4.2.5.3 - <u>Cubiertas seminales</u>	47

4.2.6 - ETAPA EMBRIONAL HELICOIDE	47
4.2.6.1 - <u>Embrión</u>	47
4.2.6.2 - <u>Endosperma</u>	48
4.2.6.3 - <u>Cubiertas seminales</u>	49
5 - <u>DISCUSION</u>	50
6 - <u>CONCLUSIONES</u>	56
7 - <u>RESUMEN</u>	58
8 - <u>SUMMARY</u>	58
9 - <u>BIBLIOGRAFIA</u>	59
10 - <u>ANEXO</u>	66

LISTA DE ILUSTRACIONES

Fig.1 - Mapa de distribución del género <i>Cuscuta</i>	6
Fig.2 - <i>C.obtusiflora</i> : tallos, flores, frutos y semillas	24
Fig.3 - <i>C.obtusiflora</i> : representación diagramática	26
Fig.4 - Sección longitudinal floral de <i>C.obtusiflora</i>	29
Fig.5 - Desarrollo de antera y polen	31
Fig.6 - Ovulos maduros	33
Fig.7 - Megasporogénesis y desarrollo del saco embrionario	35
Fig.8 - Evidencias histológicas de alogamia	36
Fig.9 - Embriogénesis cigótica	38
Fig.10 - Semilla en etapa proembrional	40
Fig.11 - Endosperma y tejido seminal interno en la embriogénesis temprana	41
Fig.12 - Endosperma y tejido seminal interno en la embriogénesis tardía	42
Fig.13 - Semilla en etapa embrional globular	44
Fig.14 - Semilla en etapa embrional transicional	46
Fig.15 - Célula secretora interna de la semilla en desarrollo	47
Fig.16 - Semilla en vías de madurez	48
Fig.17 - Estadios joven y maduro de las cubiertas seminales	49

1 - INTRODUCCION

El género de malezas fitoparasitas pertenecientes al género *Cuscuta* se destaca por los perjuicios que su presencia y desarrollo ocasionan a nivel agroeconómico, razón por la cual se requieren estudios que permitan caracterizar los aspectos básicos de la reproducción de estos organismos.

Hasta el presente no se han realizado estudios concernientes a la biología reproductiva de la especie nativa *Cuscuta obtusiflora* H.B.K. , según diferentes recopilaciones bibliográficas consultadas (Davis, 1966; Nagendran & Dinesh, 1989; Johri *et al.*, 1992; Nickrent, 1999).

Por este motivo se han realizado en el ámbito nacional investigaciones preliminares recientes (Rodríguez-Pontes, 1996, 1997, 1998a, 1998b, 1998c) sobre diversos aspectos reproductivos y estructurales de esta especie, los que por abarcar temáticas específicas, requieren ser proseguidas y a su vez sintetizadas.

Sobre la base de las consideraciones anteriormente mencionadas, se definen los objetivos que enmarcan el presente trabajo:

1.1 - OBJETIVO GENERAL

Conocer las bases microestructurales de la biología de la reproducción de *Cuscuta obtusiflora*, a efectos de profundizar y globalizar el estudio de los procesos reproductivos de esta maleza.

1.2 - OBJETIVOS ESPECIFICOS

a)-Obtener datos de la conformación histológica de la semilla de *Cuscuta obtusiflora* que contribuyan a interpretar los mecanismos dispersivos de los focos de infestación de cúscuta en sistemas productivos.

b)-Conocer las bases citológicas de la biología floral de *Cuscuta obtusiflora* que operan en la generación de semillas viables - y por lo tanto en la performance reproductiva y el potencial de inóculo - de esta especie.

c)-Caracterizar el sistema reproductivo de esta maleza fitoparasita.

2 - REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 - FANEROGAMAS PARASITAS

La información contenida en el ítem 2.1 y 2.2 ha sido adaptada a partir de las páginas web de Nickrent (1999), Texas University (1999) y University of California (1999?).

2.1.1 - FITOPARASITISMO

La interacción hospedante-parásito entre plantas superiores se manifiesta a través de la utilización por parte del parásito de agua y nutrientes de otra planta (hospedante) en detrimento de esta última.

Si esta interacción de parasitismo es obligatoria, el organismo vegetal dependiente de la misma es denominado holoparásito. Por otra parte, si un organismo vegetal puede vivir y desarrollarse como parásito o en forma parcialmente autónoma (sin considerar los estadios latentes), este organismo recibe la denominación de hemiparásito o parásito facultativo.

El parasitismo ha evolucionado de forma recurrente en las Dicotiledóneas, presentando caracteres convergentes entre los diferentes taxa en los que se manifiesta.

2.1.2 - PLANTAS PARASITAS: GRUPOS TAXONOMICOS

De acuerdo con Holm *et al.* (1977) existen 10 familias de fanerógamas que incluyen especies parásitas, aunque señalan que según otros autores este número puede oscilar entre 15 y 19.

Los taxa que incluyen plantas parásitas pueden abarcar familias completas de plantas, o algunos géneros pertenecientes a una familia determinada.

Hasta el presente las familias que incluyen total o parcialmente especies parásitas son las siguientes:

- Apodanthaceae
- Balanophoraceae
- Cuscutaceae (a veces incluida en Convolvulaceae según diferentes autores)

- Cynomoriaceae
- Cytinaceae
- Hydnoraceae
- Krameriaceae
- Lauraceae
- Lennoaceae
- Loranthaceae
- Misodendraceae
- Mitrastemonaceae
- Olacaceae
- Opiliaceae
- Orobanchaceae (dentro de Scrophulariaceae según diversos autores)
- Rafflesiaceae
- Santalaceae
- Scrophulariaceae
- Viscaceae

Todas estas familias pertenecen a las Angiospermas (División Anthophyta). El género *Parasitaxus* de Nueva Caledonia sería la única Gimnosperma (División Pinophyta) parásita, según la consideración de algunos autores.

Las plantas parásitas pueden ser clasificadas según su modo de interacción de fitoparasitismo, en los siguientes grupos:

2.1.2.1 - Plantas holoparásitas

2.1.2.1.1 - Muérdagos

Estos vegetales se agrupan en las familias Loranthaceae y Viscaceae y comprenden alrededor de las 3/4 partes del total de especies de plantas parásitas. A pesar de poseer hojas desarrolladas, y por lo tanto aparentar ser hemiparásitos, diversas evidencias fisiológicas sugieren lo contrario.

2.1.2.1.2 - Parásitos de raíces

Estas plantas comprenden un número de familias que pueden presentar actividad fotosintetizadora (Santalaceae, Krameriaceae) o no (Orobanchaceae, Scrophulariaceae, Lennoaceae, Hydnoraceae, Rafflesiaceae, Balanophoraceae).

2.1.2.1.3 - **Parásitos caulinares no fotosintetizadores**

En este grupo se encuentran incluidas la familia Cuscutaceae, algunas Rafflesiaceae y las especies parásitas de Lauraceae. Sin embargo, diversos autores han evidenciado fotosíntesis reducida en *Cuscuta*, según se ampliará en el ítem 2.6.2.

2.1.2.2. - **Plantas hemiparásitas**

En este grupo se encuentran incluidas algunas Scrophulariaceae, las que a diferencia de los muérdagos, presentan hojas desarrolladas y fotosintetizadoras, aunque una porción significativa del carbono que utilizan proviene de la parasitosis de las raíces del hospedante.

2.2 - **CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS FANEROGAMAS PARASITAS**

Las características generales de las Fanerógamas parásitas pueden ser sintetizadas de la siguiente forma:

- a)-Los nutrientes y el agua son transportados desde el hospedante a través de un puente anatómo-fisiológico denominado haustorio.
- b)-Consecuentemente, el parásito conecta su sistema vascular (al menos uno de los tejidos vasculares) al del hospedante.
- c)-El parásito puede carecer total o parcialmente de capacidad fotosintetizadora propia.
- d)-Los parásitos pueden estar ubicados en la superficie del hospedante (epiparásitos) o encontrarse inmersos en la biomasa del hospedante (endoparásitos).

2.3 - FANEROGAMAS PARASITAS DE MAYOR INCIDENCIA ECONOMICA

De acuerdo con Holm *et al.* (1977, 1997), los principales perjuicios económicos a nivel mundial son causados por:

2.3.1 - *OROBANCHE* (OROBANCHACEAE)

Debido a su gran dispersión, cabe destacar dentro de este género a *Orobanche ramosa* y *Orobanche minor*. Presentes en 45 países, la primera afecta a 25 tipos de cultivos y la segunda a 14. Atacan mayormente cultivos hortícolas, oleaginosos y pasturas. Pueden ocasionar hasta un 75% de pérdidas del cultivo y abandono del 80% de los campos infestados.

2.3.2 - *STRIGA* (SCROPHULARIACEAE)

La especie de mayor importancia es *Striga lutea*, presente en 35 países y responsable de grandes pérdidas en cultivos cerealeros, graníferos y caña de azúcar (hasta 100% en maíz y 90% en arroz).

Se ha estimado que alrededor del 5% de la tierra arable del mundo está amenazada por *Orobanche* y *Striga* (Holm *et al.*, 1997).

2.3.3 - *CUSCUTA* (CUSCUTACEAE)

Este género presenta distribución cosmopolita (excepto latitudes altas, especialmente boreales, y el continente antártico) (fig.1) y ataca un amplísimo rango de cultivos hortícolas, forrajeros e incluso forestales. Hunziker (1950) señala que el continente americano es el más rico en especies, encontrándose la mayor proporción de las mismas en Norteamérica. La presencia de estas malezas en un cultivo ocasiona pérdidas de hasta 80% y abandono del 20% de los campos infestados.

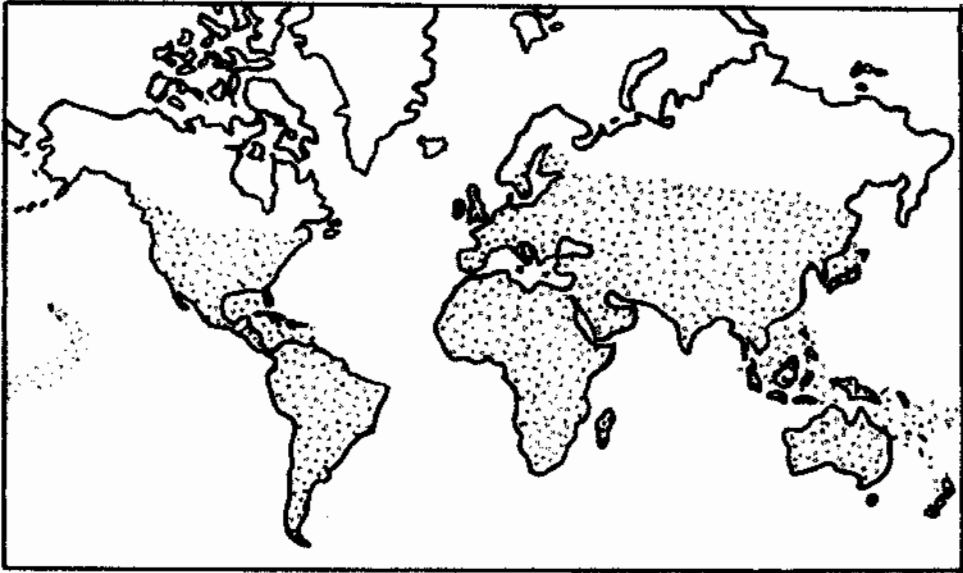


Fig.1 - Mapa de distribución del género *Cuscuta* (adaptado de Nickrent, 1999).

La especie más peligrosa para la economía mundial es *Cuscuta campestris*, seguida de *Cuscuta epithymum* (Parker, 1978; en: Holm *et al.*, 1997) (Parker & Wilson, 1986; en: Holm *et al.*, op.cit.), ambas especies de distribución cosmopolita. A nivel regional y local son numerosas las especies perjudiciales. Las características parasitarias, los perjuicios y las implicancias legales de las cúscutas serán tratados con mayor amplitud en los ítems subsiguientes.

2.4 - CUSCUTA: CONSIDERACIONES TAXONOMICAS

Al remitirnos en esta sección a los autores citados por Hunziker (1950), la primera descripción conocida de un representante del género *Cuscuta* proviene de la Antigüedad Clásica, siendo atribuida a Dioscórides, quien hace referencia a la especie actualmente conocida como *Cuscuta epithymum*.

La denominación actual del género ha sido creada por Tournefort (1719) y aceptada como tal por Linneo (1735-1753). Batsch (1745) lo asocia a *Basella* para formar el orden Cuscutae, mientras que Adanson (1763) lo incluye en Portulacaceae y Rueling (1774) en Campanulaceae.

Jussieu (1789) es el pionero en descubrir la afinidad existente entre *Cuscuta* y *Convolvulus*. A partir de este momento la atribución de *Cuscuta* a la

familia Convolvulaceae o a una familia aparte (Cuscutaceae) ha sido motivo de larga controversia. Gran número de autores ha defendido la primera línea (Brown, 1870; Link, 1829; Chairy, 1841-45; Engelmann, 1859; Bentham & Hooker, 1873-76; Eichler, 1875; Goebel, 1882; Warming, 1884; Baillon, 1890; Engler, 1891; Hallier, 1893 y 1901; Yuncker, 1920-32; Hutchinson, 1926; Engler-Diels, 1936; en: Hunziker, 1950) (Cronquist, 1968; Austin, 1975; en: Vázquez-Santana *et al.*, 1992) y otros la segunda (Bastling, 1830; Linley, 1830-46; Meisner, 1836-43; Endlicher, 1836-40; Pfeiffer, 1845; Des Moulins, 1853; Le Maout et Decaisne, 1876; Wettstein, 1927-35; en: Hunziker, 1950)(Hutchinson, 1959; Hadac & Chrtek, 1970; Cronquist, 1981; Austin, 1986; en: Vázquez-Santana *et al.*, 1992).

Austin (1975; en: Vázquez-Santana *et al.*, 1992) sostiene que existen las suficientes evidencias filogenéticas para suponer que las cúscutas evolucionaron a partir de Convolvulaceae o ambas familias a partir de un ancestro común. Dentro de este contexto, estudios recientes focalizados en la ontogenia floral (Vázquez-Santana, *op.cit.*), han sugerido una significativa afinidad entre los géneros *Cuscuta* y *Dichondra*.

Según Hunziker (1950) la afinidad más significativa entre *Cuscuta* y Convolvulaceae se da a nivel de las caracteres histológicos del tejido secretor, en particular a nivel del tallo y la corola. Sin embargo, el mismo autor reporta importantes diferencias entre ambos taxa: *Cuscuta* presenta la prefloración de la corola imbricada (siendo torcida en Convolvulaceae), pequeñas brácteas escamiformes en lugar de hojas y cotiledones, hacecillos colaterales y/o exclusivamente liberianos (floemáticos) (en Convolvulaceae suelen ser bicolaterales), y ausencia de piloriza y epidermis que determina que los pelos radiculares se diferencien en la corteza.

Aplicaciones recientes de modernas técnicas cromatográficas de empleo de alcaloides, glicorresinas y glucósidos como marcadores taxonómicos, han arrojado resultados que sugieren la pertenencia de *Cuscuta* a Convolvulaceae más que a una familia independiente (Pérez-Amador *et al.*, 1996). Asimismo, la potencialidad de empleo de ciertos compuestos fenólicos estables de diferentes especies de *Cuscuta* como marcadores taxonómicos, ha sido también evaluada recientemente (Loffler *et al.*, 1997).

De acuerdo con Yuncker (1932; en: Holm *et al.*, 1997) el género *Cuscuta* abarcaría 158 especies reconocidas a nivel mundial. Por otra parte Hunziker (1950) reporta la existencia de 167 especies comprendidas en este género, agrupadas en tres subgéneros y 87 variedades, según figura a continuación:

Género: *Cuscuta*

Subgénero:	Especies	Variedades
<i>Grammica</i>	130	54
<i>Genuina</i>	28	26
<i>Monogynella</i>	9	7

	167	87

No obstante, los referidos autores remarcan los escasos caracteres vegetativos que permanecen lo suficientemente estables para permitir su uso en determinaciones taxonómicas específicas precisas, por lo que suele requerirse el empleo de caracteres asociados a las estructuras reproductivas para ubicaciones taxonómicas a nivel de especie.

Aun si se toman en cuenta estas consideraciones, tanto las delimitaciones como las determinaciones de las especies de *Cuscuta* resultan en muchos casos altamente imprecisas, incluso un único taxón específico podría haber sido descrito bajo forma de diferentes especies en diversos lugares del mundo (Holm et al, 1997).

2.5 - CUSCUTA: ORGANOLOGIA Y ANATOMIA

Las principales características anatómicas y organológicas del género *Cuscuta* han sido compiladas, adaptadas y sintetizadas de Hunziker (1950) y Holm et al. (1997):

2.5.1 - HABITO

Plantas herbáceas, parásitas, trepadoras, con escasa presencia de clorofila.

2.5.2 - SISTEMA RADICULAR

Al germinar la semilla emerge una raíz rudimentaria que rápidamente degenera cuando la parte aérea de la planta establece conexión haustorial con el hospedante. Las plantas maduras carecen de sistema radicular, y por lo tanto, de fijación al sustrato edáfico.

2.5.3 - HAUSTORIOS

Se diferencian rudimentos haustoriales sobre el sistema caulinar (tallo) que penetrarán en los tejidos del hospedante, estableciendo conexión estelar (xilema y floema) con el mismo para conformar los haustorios maduros. Este tema se tratará con mayor detalle en el ítem 2.6.1.2.

Con respecto al carácter de la conexión vascular en el punto de contacto xilemático, si se trata de una conexión abierta entre ambos sistemas vasculares hospedante-parásito o si es a través de traqueidas, permanece aun sin dilucidar (Dorr, 1987; en: Holm *et al.*, 1997).

2.5.4 - SISTEMA CAULINAR

Presenta morfología filiforme y normalmente coloración amarilla o anaranjada. El tejido epidérmico presenta estructuras estomáticas. La región cortical está usualmente conformada por tres estratos de células, con presencia de estructuras secretoras catalogadas como laticíferos articulados por Lysheide (1985). El tejido vascular primario presenta carácter centrífugo y se dispone usualmente en cinco pequeños haces vasculares colaterales. Los tricomas (pelos) cuando presentes, son uni a bicelulares y no glandulares.

2.5.5 - ESTRUCTURAS FOLIARES

Las hojas - no funcionales - se encuentran reducidas a estado de escamas de inserción alterna espiral. Presentan estomas anomocíticos.

2.5.6 - INFLORESCENCIA

Las inflorescencias son cimosas con flores densamente agrupadas. A menudo se desarrollan en proximidad a los puntos de contacto con el hospedante.

2.5.7 - FLOR

Las flores son hermafroditas, actinomorfas y pentámeras (a veces trímeras o tetrámeras). La fórmula floral típica es:

K(5),{C(5), A(5)}, G(2).

Cáliz: gamosépalo o connado en la base. Generalmente el tubo calicinal presenta longitud distinta a los lóbulos. Es persistente en el fruto.

Corola: simpétala con lobos imbricados. La coloración es blanca a rosada. El tubo corolino presenta una serie de escamas infraestaminales usualmente fimbriadas, con inserción alterna a los estambres.

Androceo: presenta cinco estambres con filamentos adnados al tubo corolino; que alternan con los lobos de la corola. Las anteras son cortas, ditecas, tetrasporangiadas, con apertura longitudinal. El polen es trinucleado y 3-6 aperturado.

Gineceo: sincárpico, hipógino, bicarpelar, bilocular (raramente tricarpelar y trilocular) y normalmente tetraovulado. El estilo es bífido desde la base. El estigma es papilado, capitado o lineal-elongado.

2.5.8 - FRUTO

El fruto es capsular, generalmente globoso o subcónico, con dehiscencia circuncisa (pixidio), irregular, o también puede ser indehiscente.

2.5.9 - SEMILLA

El carácter albuminado o exalbuminado de las semillas ha sido mencionado por Hunziker (1950) como punto de controversia. A menudo presentan tamaño y morfología similar a la de sus hospedantes (ejemplo: alfalfa (*Medicago sativa*)).

2.5.10 - EMBRION

El embrión presenta morfología cilíndrico-filiforme enroscada normalmente hasta 3,5 veces, con cotiledones ausentes o reducidos a rudimentos escamiformes.

2.5.11 - NUMERO CROMOSOMICO

El número básico de cromosomas 7, con dos series poliploides (de $n=7$ y $n=15$ respectivamente).

2.6 - BIOLOGIA DEL GENERO CUSCUTA

2.6.1 - BIOLOGIA DEL DESARROLLO

2.6.1.1 - Germinación/emergencia

Según Lyshede (1985) la raíz en *Cuscuta campestris* y *Cuscuta pedicellata* emerge a través de la región hilar de la semilla alcanzando algunos milímetros para degenerar a los pocos días, en tanto el tallo de la plántula -que al inicio mide 1-1,5 cm- absorbe los nutrientes antes de emerger erguido de la testa y nutar (rotar) en busca de un objeto u hospedante al que adherirse. A los pocos días, la plántula se desplaza sobre el suelo en dirección a la fuente lumínica de mayor intensidad, evidenciando un marcado fototropismo positivo. En ausencia de hospedante, las plántulas pueden sobrevivir hasta 4 semanas en condiciones de suelo humedecido diariamente.

Las plántulas presentan morfología filamentosa y coloración amarillenta, siendo difíciles de detectar, aunque alcanzan a medir 7 cm durante la nutación (Ríos *et al.*, 1990). De acuerdo con Dawson (1984, 1987; en: Holm *et al.*, 1997) las plántulas presentan la suficiente succulencia como para resistir un estrés desecante, aunque con susceptibilidad de ser dañadas por el efecto de los vientos secos. Su eje caulinar aparenta absorber humedad en forma análoga a una raíz. Dependiendo de la especie, edad y factores ambientales, las plántulas pueden disminuir sus actividades hasta contactar con un hospedante apropiado.

2.6.1.2 - Establecimiento del parasitismo

Lyshede (1984; en: Holm *et al.*, 1997) (1985) sostiene que una plántula de cúscuta es capaz de crecer en proximidad a un hospedante apropiado sin contacto alguno. El crecimiento de los tallos del parásito sobre el hospedante no siempre es causal de penetración vascular. El referido autor observa además que un hospedante compatible (*Trifolium alexandrinum*) de edad menor a las tres semanas carece de atractivo para las cúscutas. Otros autores (Holm *et al.* 1977, 1997) han encontrado que decrece la posibilidad de contacto al existir un distanciamiento mayor de 3 cm entre las plántulas del hospedante y el parásito.

Nickrent (1999) describe el inicio del desarrollo haustorial como la formación de dilataciones prehaustoriales en la superficie interna (adnada al hospedante) de los tallos en elongación. Posteriormente, se diferencian masas

celulares en estos prehaustorios, denominadas "iniciales del haustorio", que proliferan avanzando a través de estos prehaustorios para penetrar en el tejido del hospedante y establecer contacto vascular.

A fin de dilucidar posibles homologías de los haustorios de las cúscurtas con raíces adventicias modificadas, la morfogénesis haustorial en los tres subgéneros de *Cuscuta* ha sido estudiada recientemente por Zhuk (1997) mediante transecciones de microscopía óptica y electrónica de barrido. Los resultados han evidenciado la carencia de meristemas apicales y caliptra en estos sistemas haustoriales, así como su diferenciación a partir del parénquima cortical del eje caulinar de la cúscuta en lugar de hacerlo a partir de un periciclo. Adicionalmente, durante su desarrollo predomina la elongación sobre la división celular, con consecuente limitación de su capacidad de crecimiento. El número de células endofíticas del parásito en el hospedante estaría determinado por el número de células del parénquima cortical del tallo de la cúscuta. De esta forma, quedaría descartada una homología radicular de estos haustorios, los que filogenéticamente podrían ser considerados como estructuras de neoformación surgidas durante la evolución de *Cuscuta* al parasitismo.

En un raro caso de parasitosis de una especie de gramíneas (*Digitaria ciliaris*) por cúscuta (*Cuscuta reflexa*) se detectó mediante transecciones que el haustorio penetra en el hospedante por ruptura de células epidérmicas (bulliformes) o a través de los poros epidérmicos (estomas) (Dey & Pati, 1998).

Investigaciones recientes (Archana-Singh *et al.*, 1997) han puesto de manifiesto que *Ipomoea batatas* y *Lycopersicon sculentum* presentan mecanismos de resistencia a la infección de *Cuscuta reflexa* tanto a nivel epidérmico (mediante fuertes inhibidores enzimáticos) como a nivel del establecimiento de la conexión vascular hospedante-parásito por probable efecto de los mismos inhibidores secretados por el hospedante.

Evidencias experimentales han permitido establecer la incidencia de estímulos lumínicos y mecánicos en la formación de los prehaustorios (Tada *et al.*, 1996; Haidar *et al.*, 1997), con fuerte implicancia del sistema fitocromo en *Cuscuta japonica* (Furuhashi *et al.*, 1997). En *Cuscuta planiflora* se obtuvo un máximo de diferenciación de prehaustorios en un entorno de irradiancia rojo/rojo lejano del orden de 0,1 (Haidar & Orr, 1999). Asimismo, un eventual rol de las citoquininas en la organogénesis del sistema haustorial ha sido sugerido por Tsivion (1978). Estudios recientes sugieren que tanto el incurvamiento caulinar como la diferenciación de estructuras haustoriales estarían inducidos

por la zeatina mediada por fitocromos, e inhibida por auxinas (IAA) (Haidar *et al.*, 1998).

Durante el encuentro y establecimiento de la unión hospedante-parásito, se constata un marcado cambio en el hábito de crecimiento del parásito. Lyshede (1985) describe el cese del crecimiento caulinar y del contacto con el medio edáfico a medida que se desarrollan los haustorios en *Cuscuta campestris* y *Cuscuta pedicellata*. A nivel caulinar se observa la diferenciación de escamas foliares y ramificaciones. Los ápices de una cúscuta activa pueden experimentar un crecimiento diario de hasta 50 mm.

Cuando el hospedante evidencia síntomas de decrepitud, el parásito comienza a florecer (Lyshede, 1985). A partir de esta etapa, la sucesiva muerte de haustorios conforma una vía de ingreso de plagas y patógenos en el hospedante. El parásito es capaz de sobrevivir durante varios días en el hospedante muerto.

2.6.1.3 - Características epidemiológicas

Pennings & Callaway (1996) han investigado el efecto de *Cuscuta salina* en la estructura y dinámica de una comunidad vegetal nativa en California. Sus resultados han permitido concluir que esta maleza parásita puede presentar un fuerte efecto en la dinámica estructural de la vegetación nativa, aunque con la intermediación de otros agentes biológicos y físicos.

Dean (1937, 1942, 1954; en: Holm *et al.*, 1977, 1997) ha brindado abundante información de la evolución epidemiológica de las cúscutas en un cultivo. *Cuscuta gronovii* podría establecer uno o más anillos caulinares en torno al tallo del hospedante durante las primeras 5 horas de contacto, prehaustorios en los dos días siguientes, y a los cinco días los haustorios conformados invaden la zona cortical del hospedante. El foco de cúscuta en el cultivo se manifiesta inicialmente como un conjunto de parches aislados que rápidamente evoluciona a una biomasa filamentososa capaz de dañar gravemente e incluso aniquilar al cultivo. Una única planta de cúscuta puede abarcar una superficie de 3 m de diámetro en una sola estación; su propagación vegetativa puede llegar a cubrir en ese período una longitud de 75m. Si bien la generalidad de las cúscutas es considerada anual, existen evidencias de sobrevivencia a períodos invernales poco severos en *Cuscuta epithymum*, *Cuscuta gronovi* y *Cuscuta polygonorum*.

2.6.2 - CONSIDERACIONES FISIOLÓGICAS

2.6.2.1 - Actividad fotosintética

La alta concentración de pigmentos carotenoides enmascara la presencia de clorofila y otorga la característica coloración amarilla o ananjada de gran parte de las especies de *Cuscuta*. Mediciones cuantitativas de carotenoides y clorofilas *a* y *b* realizadas en *Cuscuta campestris* y *Cuscuta reflexa* demuestran su presencia en diversas partes de la planta (Mc.Leod, 1961; en: Holm *et al.*, 1997).

Evidencias experimentales confirman la ocurrencia de fotosíntesis en ejes caulinares de plántulas de *Cuscuta epilinum* y *Cuscuta australis* (incluyendo además sus flores), así como fijación de CO₂ en fases lumínica y oscura en *Cuscuta pentagona* (Holm *et al.*, op.cit.).

La aplicación de metodologías isotópicas y manométricas en *Cuscuta campestris* ha permitido establecer que la mayor actividad fotosintética se registra en las plántulas, para luego decrecer al establecerse la interacción de parasitismo (Pattee *et al.*, 1965). Los referidos autores sostienen que probablemente los fotosintatos que se sintetizan en el período lumínico no serían suficientes para sostener la actividad metabólica de la cúscuta adulta en las horas nocturnas. Sin embargo, Ciferri & Poma (1963; en: Holm *et al.*, 1997) mediante metodologías isotópicas y cromatográficas han demostrado biosíntesis de ácidos orgánicos, aminoácidos y productos de la fotosíntesis como 3-fosfoglicerato, azúcares y azúcares fosfatados, correspondientes a la fase fotosintética no lumínica.

En años recientes se han registrado grandes avances en el estudio de la fotosíntesis en *Cuscuta reflexa*. Choudhury & Sahu (1999) han profundizado en sus aspectos de ultraestructura y también bioquímicos. Hibberd *et al.* (1998), mediante inmunodetección de Rubisco, han localizado las células fotosintetizadoras en una restringida banda perivascular, con consiguiente concentración de clorofila y Rubisco. Aun cuando el movimiento de CO₂ a tales células parece ser muy bajo, las fases fotosintéticas lumínica y oscura parecen cumplirse con normalidad. Estos autores han propuesto que la principal fuente de este CO₂ asimilable deriva de procesos respiratorios de *Cuscuta reflexa*.

La interacción *Cuscuta reflexa*- *Coleus blurnei* evidencia un incremento de la fotosíntesis foliar del hospedante parasitado que el no atacado, aun bajo diversos estados nutricionales (expresados como nivel de nitrato) del mismo (Jeschke *et al.*, 1997).

2.6.2.2 - Autotrofismo/heterotrofismo

En base a los resultados precedentes resulta dificultoso caracterizar metabólicamente el grado de parasitismo de las cúscutas. Estos organismos dependen del suministro de agua y nutrientes inorgánicos del hospedante, aunque se desconoce el grado de dependencia de los metabolitos secundarios del mismo. Baldev (1959; en: Holm *et al.*, 1997) logró obtener un ciclo vital completo de *Cuscuta reflexa* en medio aséptico al igual que recientemente lo han logrado Nun & Mayer (1999) con *Cuscuta campestris*, lo cual ha puesto en duda el holoparasitismo obligado de estos organismos.

Algunos autores (Lyshede, 1985) (Nandakumar & Krishnan, 1976; Charles *et al.*, 1982; en: Holm *et al.*, 1997) sostienen que las bases metabólicas del fitoparasitismo de las cúscutas radican en los sistemas enzimáticos que operan en el estadio de plántula, considerado autotrófico.

2.6.2.3 - Translocación de solutos

El transporte de solutos vía xilemática/floemática ocurre normalmente desde el hospedante al parásito en períodos del orden de minutos (Harvey, 1930; Mc.Leod, 1961; Allred, 1966; Salageanu & Fabian-Galan, 1968; Wolswinkel, 1975; en: Holm *et al.*, 1997). Sin embargo, Littlefield *et al.* (1966) evidencian esta actividad de transporte en el doble sentido parásito-hospedante y hospedante-parásito.

Estudios del metabolismo de las interacciones *Cuscuta reflexa*-*Coleus blurnei* (Jeschke *et al.*, 1997) y *Cuscuta reflexa*-*Ricinus communis* (Jeschke & Hilpert, 1997) han demostrado que la producción de materia seca tanto del hospedante como del parásito tiende a decrecer con la disminución de las reservas de N del hospedante.

Por otra parte, evidencias experimentales a partir de la asociación *Cuscuta reflexa*-*Lupinus albus* nodulado han demostrado que los flujos y partición de N del hospedante se ven drásticamente afectados en presencia de la cúscuta, ocurriendo en menor grado para el K (Jeschke *et al.*, 1995).

2.6.3 - BIOLOGIA REPRODUCTIVA Y PROPAGACION

2.6.3.1 - Biología floral

Investigaciones de larga data (Knuth, 1906; Kerner, 1913; en: Hunziker, 1950) establecen la posibilidad de autogamia dada la igualdad en longitud de androceo y gineceo y la convergencia estaminal en varias especies.

Sin embargo otros autores (Müller, 1882; Poisson, 1883; Reiche, 1910; en: Hunziker, 1950) han sostenido que la secreción nectarífera, la protección otorgada por las escamas infraestaminales frente a la lluvia, y la fragancia floral favorecen la alogamia. También se reporta la eventual ocurrencia de fenómenos de pseudocleistogamia y cleistogamia (Kuhn, 1867; Kerner, 1913; en: Hunziker, 1950).

Referencias modernas (Holm *et al.*, 1997) establecen que la autogamia es predominante en *Cuscuta campestris*, en tanto las flores de *Cuscuta epithimum* son normalmente alógamas con polinización entomófila, aunque manteniendo su capacidad de autogamia.

2.6.3.2 - Requerimientos fotoperiódicos

Desde el punto de vista de la inducción a la floración, Baldev (1962) señala el requerimiento fotoperiódico de día corto para *Cuscuta reflexa*, en tanto Fratianne (1965) al analizar la interacción de *Cuscuta campestris* con diversos hospedantes de día largo o de día corto, obtuvo como resultado la floración del parásito únicamente en hospedantes que florecieron en forma abundante independientemente del requerimiento de fotoperíodo. Ninguno de estos autores logró aislar alguna hormona inductora de la floración del parásito.

2.6.3.3 - Período de floración

De acuerdo con Holm *et al.* (1997) la floración y producción de semilla de *Cuscuta campestris* y *Cuscuta epithimum* se prolonga por varios meses, inclusive en períodos de postcosecha del hospedante.

2.6.3.4 - Diseminación seminal

Las semillas de las cúscutas presentan capacidad de diseminación por animales (zoocoria) al resistir el pasaje por el tracto intestinal de los herbívoros (Hunziker, 1950).

Si bien Guppy (1930; en Hunziker op.cit.) niega la dispersión por agua (hidrocoria) al sostener que las semillas de *Cuscuta* se hunden rápidamente en medio líquido, Lyshede (1985) verifica la capacidad estructural de dispersión acuática del tegumento de las semillas de *Cuscuta pedicellata*.

El rol del factor antrópico en la diseminación de las cúscutas es tratado en el ítem 2.9.

2.6.3.5 - Características germinativas

Holm *et al.* (1997) hacen referencia a la capacidad de germinación de las semillas de *Cuscuta campestris* tanto en presencia como en ausencia de luz y en ausencia de estímulo químico del hospedante, aunque la velocidad de germinación aparenta estar directamente relacionada con el grado de esclerificación de las cubiertas seminales durante la maduración de la semilla. En relación a este punto, el tipo de dormición seminal de Convolvulaceae corresponde al exógeno físico (Barceló *et al.*, 1987). Hutchison & Ashton (1979) sostienen la probable ocurrencia de un enlentecimiento germinativo luego de unos días de maduración seminal.

La conformación histológica y el grado de desarrollo de la testa serían - por lo tanto - las principales determinantes del grado de permeabilidad y , consecuentemente, de las características germinativas de las semillas de cúscuta.

En condiciones de campo, las semillas de *Cuscuta campestris* pueden sobrevivir 10-20 años, *Cuscuta gronovii* 30 años, en tanto *Cuscuta cuspidata*, *Cuscuta californica*, *Cuscuta indecora* y *Cuscuta pentagona* pueden permanecer viables por más de 50 años (Dawson *et al.*, en: Holm *et al.*, 1997).

El laboreo suele enterrar las semillas. Hutchinson & Ashton (1980) hallaron que las semillas de *Cuscuta campestris* presentan un óptimo

germinativo a 3 cm de profundidad, con total decaimiento a partir de los 6,5 cm. Sin embargo otros autores (Stojanovic & Mijatovic, 1973; en: Holm, 1997) afirman que la profundidad de las semillas en el suelo no afecta mayormente la germinación, sino que retarda la emergencia, debiendo ser consideradas las propiedades físicas del suelo en el experimento. Por otra parte, semillas de la misma especie mantuvieron un 50% de actividad germinativa luego de permanecer en un envoltorio, sumergidas en un canal por cinco años (Comes et al, 1978; en: Holm et al., 1997).

La aplicación exógena de fumigantes, herbicida pronamida, solarización o shock térmico (45°C) afecta la viabilidad de las semillas blandas de *Cuscuta campestris*, en tanto las semillas totalmente esclerificadas germinan previa escarificación con ácido (Horowitz et al., 1983; en: Holm, 1997) luego de estos tratamientos.

Gaertner (1950; en: Holm et al., 1997) señala el incremento en la dificultad para germinar a medida que se esclerifica el tegumento seminal y reporta un 75% de germinación en semillas esclerificadas de *Cuscuta campestris* escarificadas en ácido sulfúrico durante 65'. Por otra parte, semillas de 20 años de esta especie escarificadas mecánicamente durante 80' obtuvieron un 100% de germinación (Ashton & Santana 1976; en: Holm et al., 1997).

La temperatura óptima germinativa en condiciones de laboratorio oscila entre 30-33°C, con límite inferior de 10°C y superior de 40°C (Stojanovic, 1959; Allred & Tingey, 1964; Stojanovic & Mijatovic, 1973; en: Holm et al., 1997). Allred & Tingey (op.cit.) reportan que el período germinativo de *Cuscuta approximata* comienza a temperatura edáfica de 5°C, en tanto *Cuscuta campestris* y *Cuscuta indecora* no germinan hasta los 10°C. *Cuscuta epithimum* presenta un óptimo germinativo a 15°C en invernáculo, en tanto en condiciones de campo comienza a emerger a los 15 días de alcanzarse una temperatura edáfica de 10°C (Holm et al., 1997).

Ochoa (1995) demuestra que las semillas de *Cuscuta indecora* var. *longisepala* presentan un incremento germinativo a temperatura ambiente de 20°C con un óptimo a 25-30°C. Empleando tierra como sustrato, las semillas presentan un porcentaje germinativo del 53%, en comparación a un 20% en sustrato arenoso. El tratamiento escarificante con ácido sulfúrico es más efectivo (76% de germinación) que el mecánico (48%), estableciéndose finalmente que las semillas de esta especie necesitan para germinar en valores

óptimos un entorno térmico de 30°C y humedad igual o mayor que capacidad de campo.

Holm *et al.* (1997) establecen como conclusión general que tanto la temperatura óptima de germinación como el período de longevidad seminal viable en el suelo varían con cada especie de *Cuscuta*.

2.6.3.6 - Propagación vegetativa

Los fragmentos caulinares de las cúscutas mantienen una alta capacidad de regeneración, permaneciendo viables inclusive en los órganos cosechados de los hospedantes (Hunziker, 1950; Truscot, 1958; Olifirencu, 1959; Urton, 1945; en: Holm *et al.*, 1997).

La capacidad inductiva *in vitro* de embriones somáticos vía embriogénesis indirecta en *Cuscuta reflexa*, ha sido evidenciada por Maheshwari & Baldev (1961; en: Johri & Rao, 1984).

2.6.4 - RELACIONES HUESPED-PARASITO

2.6.4.1 - Monofagia/polifagia

Según diversos autores (Gaertner, 1950; Dean, 1934, 1935; Allred & Tingey, 1957; en: Holm *et al.*, 1997) ninguna especie de cúscuta sería exclusivamente parásita de una única especie de hospedante.

Esta polifagia es reportada por Holm *et al.* (op.cit.), quienes hacen amplia mención del rango de hospedantes susceptibles de ser atacados por las dos especies de mayor importancia económica a nivel mundial: *Cuscuta campestris* y *Cuscuta epithimum*. El mismo abarca - según los referidos autores - "docenas de hospedantes" entre los que pueden mencionarse: espárragos, zanahorias, guisantes, diversos tréboles, melones, alfalfa, cebollas, papas, tabaco, remolacha azucarera, etc.

Estas plantas fitoparásitas pueden aguardar en una maleza antes de establecer contacto con una especie cultivada, así como una misma planta de cúscuta puede atacar simultáneamente más de una especie de hospedante.

Cuscuta campestris raramente ataca gramíneas, aunque *Cuscuta epithimum* - probablemente la especie de mayor rango de hospedantes, pero menos destructiva que la anterior - frecuentemente aparece sobre esta familia

de monocotiledóneas. A modo de ejemplo, ha sido observada atacando *Dactylis spp.*, *Poa pratensis*, *Zea mays* y *Lolium spp.* (Holm *et al.*, 1977, 1997) y, según se ha investigado más recientemente, *Digitaria ciliaris* es susceptible al ataque de *Cuscuta reflexa* (Dey & Pati, 1998).

A pesar de su carácter polífago, las cúscutas no presentan el mismo comportamiento en cualquier hospedante (Holm *et al.*, op.cit.). Una misma especie de *Cuscuta* puede - en diferentes hospedantes - crecer de modo excepcional, desarrollarse, producir semilla rápidamente y morir; o simplemente permanecer unida al mismo aguardando hallar otro mejor. La apariencia del parásito puede depender, además, del vigor del hospedante parasitado.

Adicionalmente, un ejemplar de cúscuta puede parasitar a otro, o aun autoparasitarse (Hunziker, 1950; Holm *et al.*, 1997).

2.6.4.2 - Implicancias virológicas y microbiológicas

Las cúscutas presentan la capacidad de actuar como vectores virales. Se ha evidenciado el transporte de virus entre dos hospedantes compatibles conectados a través de una cúscuta (Holm *et al.*, 1997), pero aun no ha podido ser caracterizado en sus bases biofísicas.

A modo de ejemplo puede hacerse referencia al virus del mosaico cítrico (CMBV), que en India es transmitido por *Cuscuta reflexa* a 13-14 especies y cultivares de *Citrus* (Ahlawat *et al.*, 1996), y al virus del mosaico de la lenteja (LMV) que tiene a *Cuscuta campestris* como vector (Raj-Kumar, 1994).

En años recientes han cobrado vigor las investigaciones de los micoplasmas transmitidos por las cúscutas (Loi *et al.*, 1995; Marcone *et al.*, 1995; Ghosh *et al.*, 1999; Marcone *et al.*, 1999).

2.7 - CUSCUTA: MARCO LEGAL VIGENTE

2.7.1 - LEGISLACION INTERNACIONAL

Holm *et al.* (1997) afirman que la legislación declara a las cúscutas como malezas nocivas en 25 países, con ingreso prohibido bajo cualquier forma, incluyendo mercadería contaminada. En Estados Unidos es la única maleza de traslado prohibido en el ámbito interno, en todos los estados de la Unión.

2.7.2 - LEGISLACION NACIONAL

La legislación nacional ha declarado la cúscuta como "maleza prohibida". Esta categorización es aplicada de acuerdo con las normativas referentes a la producción y comercialización de semillas, tales como la Ley 15.173 (Uruguay, 1981) y modificaciones posteriores.

2.8 - UTILIDADES Y USOS DEL GENERO CUSCUTA

Las utilidades son marcadamente marginales con respecto a los perjuicios económicos ocasionados. Algunas de las aplicaciones (Hunziker, 1950; Holm *et al.*, 1997) que pueden ser mencionadas son las siguientes:

a)- Desde el punto de vista de la investigación básica, *Cuscuta* resulta ser un género que presenta un interés particular por sus características biológicas (ciclo vital, taxonomía, etc.).

b)- El carácter de vector de virus que presentan las cúscutas permite su uso en el análisis de determinados complejos virales implicados en este fenómeno.

c)- Ciertas especies presentan grandes flores fragantes y pueden emplearse como ornamentales, cultivándolas sobre *Pelargonium*, como por ejemplo *Cuscuta reflexa* y la europea *Cuscuta lupuliformis* Krock.

d)- Algunas especies, como *Cuscuta tinctoria* Martius, son utilizadas para extracción de colorantes amarillos.

e)- A algunas especies se les ha atribuido propiedades medicinales (Hunziker *et al.*, op.cit.). Esta sería actualmente la aplicación a la que se presta la mayor atención en este género (Backhouse *et al.*, 1996; Agha *et al.*, 1996; Mahmood *et al.*, 1997).

f)-El extracto alcohólico de *Cuscuta reflexa* presenta acción insecticida (Preeti-Sharma *et al.*, 1998).

2.9 - EL GENERO CUSCUTA EN URUGUAY

De acuerdo con Scattolini (1998) las especies actualmente determinadas para nuestro país son ocho, y abarcan dos grupos:

a)-Especies exóticas: en este grupo se encuentran comprendidas *Cuscuta pentagona* Engelm. var. *calycina* (origen europeo) y *Cuscuta indecora* Choisy (norteamericana). Por encontrarse presentes en agroecosistemas ganaderos y/o forrajeros, estas especies son las más conocidas en nuestro medio. Menos conocidas son *Cuscuta suaveolens* Seringe (chilena) y *Cuscuta epithymum* (cosmopolita).

b)-Especies nativas: habitan preferentemente humedales, en donde parasitan diversas plantas nativas, pudiendo ingresar accidentalmente a sistemas hortícolas o forestales. Este grupo abarca a *Cuscuta obtusiflora* H.B.K., *Cuscuta platyloba* Progel., *Cuscuta xanthochortos* Mart. y *Cuscuta cristata* Engelm.

De acuerdo con Ríos *et al.* (1990) y Basáñez, D. (1993), en nuestro país la presencia de cúscuta se detecta principalmente en agroecosistemas ganaderos (praderas) o semilleros de leguminosas forrajeras (ejemplo: *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Medicago sativa*). Además, en sistemas agrícolas es capaz de atacar cultivos como lino, papa, zanahoria, acelga, espinaca, etc. Eventualmente se detectó su presencia en viveros forestales (*Eucalyptus spp.*) según comunicaciones verbales de diversos productores y técnicos.

Según Scattolini (1998) el auge de la problemática ocasionada por la cúscuta en Uruguay data de la década del '70 con la importación de semilla fina de leguminosas forrajeras contaminada.

Los efectos negativos a considerar, además de las pérdidas directas en el rendimiento y productividad de los cultivos, comprenden la desvalorización de establecimientos, la disminución de la persistencia de pasturas, la imposibilidad de exportación de semilla fina y las dificultades para su procesamiento.

En los casos en que la cúscuta alcanza el 50-60% de la ingesta en animales herbívoros, las toxinas del parásito ocasionan a los mismos disturbios digestivos, debilidad, abortos, espasmos musculares, inapetencia y sialorrea (Ríos *et al.*, 1990).

El ciclo de las cúscutas en nuestro medio es de tipo primavero-estival (Ríos *et al.*, *op.cit.*). En nuestras condiciones las semillas germinan a temperatura edáfica de 15°C y alta humedad en suelo. En sistemas pastoriles o semilleros de forrajeras, si la pastura presenta buen desarrollo, intercepta la luz y la cúscuta se desarrolla en el estrato bajo siendo difícil su detección. En situaciones de pastoreo o cosecha, el crecimiento conjunto del hospedante y el parásito permite la fácil visualización de la cúscuta.

En condiciones de día corto y menor temperatura (fin de verano y otoño), el ciclo de la cúscuta se acorta, con rápida floración y fructificación.

Los referidos autores (Ríos *et al.*, *op.cit.*, Basáñez, 1993) sostienen que en Uruguay la reinfestación interanual es producida por vía seminal como inóculo primario, a pesar de ser posible su sobrevivencia invernal en estado vegetativo y de esta forma poder comportarse como inóculo secundario.

En nuestro país la cúscuta sería dispersada - a través de semillas y/o fragmentos caulinares - por animales (tracto digestivo, pelaje, pezuñas), lotes de semilla contaminados, fardos de forraje, maquinaria contaminada, cursos de agua o sistemas de riego y turba contaminada, entre otras formas (Ríos *et al.*, 1990).

Las medidas preventivas que estos autores estiman que deben considerarse frente a la cúscuta abarcan aspectos como sembrar semilla libre del parásito, limpiar apropiadamente maquinaria y herramientas, no alimentar ganado con forraje o fardos contaminados, no hilerar ni enfardar en praderas contaminadas, así como no cosechar su semilla. Además se deben extremar precauciones frente a la compra de semilla - no existe maquinación que asegure total erradicación de las semillas del parásito - y fardos, maquinaria compartida e ingreso de animales al predio (Ríos *et al.*, 1990; Basáñez, 1993).

Estos autores sostienen que el control erradicante se realiza mediante aplicación de herbicidas y quema de manchones, rotación con gramíneas, control del pastoreo, etc. Últimamente ha sido evaluada la aplicación de glifosato para la viabilidad de su control en praderas de leguminosas (Ríos *et al.*, 1997). Por otra parte, merece destacarse que en diversos países se utilizan agentes fúngicos para el control biológico de estas malezas (Guo-Feng Gen *et al.*, 1998).

2.10 - CUSCUTA OBTUSIFLORA Humboldt, Bonpland & Kunth

2.10.1 - SITUACION EN URUGUAY

Cuscuta obtusiflora H.B.K. - conocida en Brasil bajo el nombre vernáculo de "cipó chumbo" - es una especie de distribución principalmente neotropical. La variedad *glandulosa* se encuentra presente en Norteamérica (ej. Texas). La variedad *typica* es sudamericana y se caracteriza por su distribución geográfica amplia y discontinua, aparentemente asociada a la existencia de cursos hídricos, humedales y vegetación hidrófila (Hunziker, 1950). Su hábitat natural comprende cursos de agua y sus orillas, donde puede ser hallada parasitando plantas hidrófilas - en Argentina es predominante sobre *Gymnocoronis spilanthoides* y *Jussiaea* spp. (Hunziker, op.cit.) - y excepcionalmente sobre especies leñosas.

El autor citado con anterioridad hace especial énfasis en la ausencia de recolección de muestras en Venezuela, Bolivia y Uruguay. No obstante, desde 1993 se ha registrado la presencia de esta especie (fig.2) y de *Cuscuta platyloba* en sistemas hortícolas y posiblemente en viveros forestales, que frecuentemente utilizan sustratos contaminados provenientes de ecosistemas nativos, lo que ha revertido esta situación. Actualmente *Cuscuta obtusiflora* es considerada una especie nativa de humedales y cursos hídricos del Uruguay, existiendo muestras herborizadas de la misma en el Herbario "Bernardo Rosengurt" (MVFA).

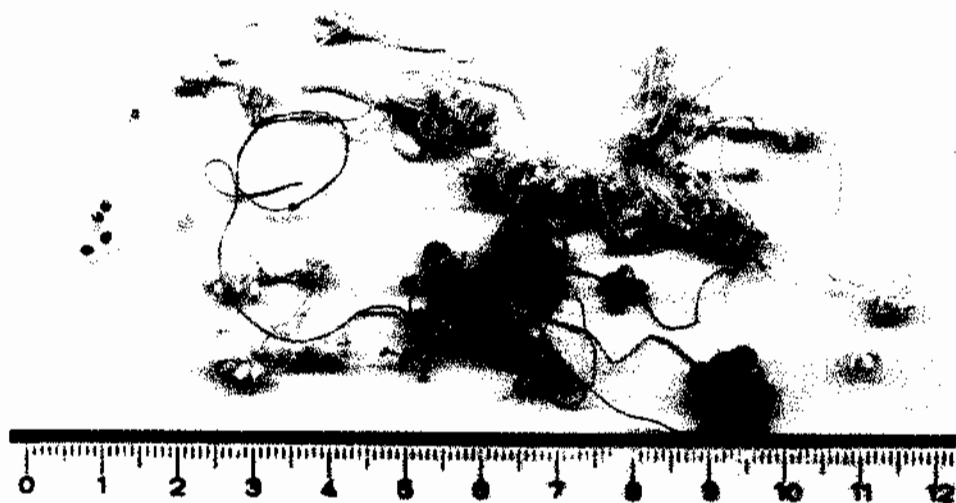


Fig.2 - *C.obtusiflora*: tallos, flores, frutos y semillas (tamaño natural; escala en cm).

En nuestro medio, esta especie se comportaría como anual y puede ser hallada parasitando diversas especies hidrófilas. Su régimen es notoriamente polífago, ya que ha sido observada por el autor de este trabajo - en el Departamento de Montevideo - sobre hospedantes tan dispares como *Solanum spp.* (Solanaceae) nativos en Bañados de Carrasco o *Mentha rothundifolia* (Labiatae) a orillas del Arroyo Toledo.

2.10.2 - DESCRIPCION BOTANICA

La descripción botánica de la especie mencionada (fig.3) ha sido extractada y adaptada de Hunziker (1950):

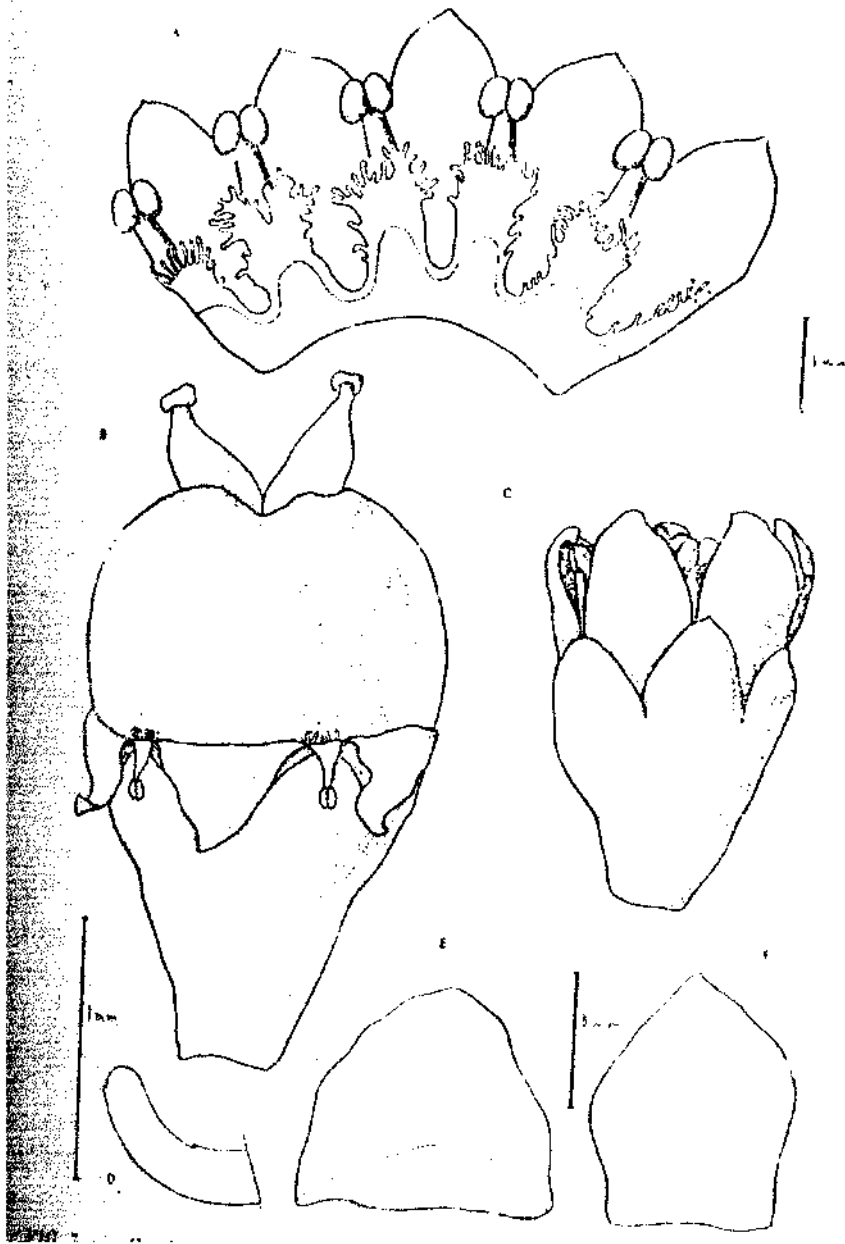


Fig.3 - *C. obtusiflora*: representación diagramática. A, corola desplegada; B, fruto; C, flor; D, ápice caulinar embrionario; E y F, brácteas. (adaptado de Hunziker, 1950).

Familia: Convolvulaceae (= Cuscutaceae Dum.).

Género: *Cuscuta* (Tourn.)L.

Subgénero: *Grammica* (Loureiro) Peter.

Especie: *Cuscuta obtusiflora* H.B.K.

Tallos amarillos, delgados, medianos a gruesos. Brácteas aovadas, obtusas, de 1-1,7 mm de largo por 1-1,5 mm de ancho, de cuyas axilas nacen generalmente un pedicelo y tres pedúnculos, o tres pedicelos y un pedúnculo. Pedicelos obtronco-cónicos de 1,5-2 mm, comprimidos según un plano perpendicular al de los estilos. Flores de 2-3 mm, a veces con cuerpos glanduloides oblongos. Cáliz de aproximadamente 1,5 mm igual o apenas más largo o más corto que el tubo corolino; lóbulos desiguales, contiguos o apenas superpuestos antes de la fecundación, luego siempre contiguos; en una misma flor predominan a menudo los oblongos y apiculados, y solo uno o dos son más anchos que largos y obtusos. Tubo corolino cilíndrico o apenas infundibuliforme: lóbulos contiguos, aovados-triangulares, apiculados, no angostados en la base, generalmente algo oblongos, un poco más cortos o iguales al tubo corolino, raramente algo mayores; inconspicuamente papilosos, sobre todo cerca del ápice que es inflexo y levemente cuculado; márgenes más o menos curvilíneos y algo irregulares. Estambres tan largos como 2/3 o 3/4 de de los lóbulos corolinos; anteras de aproximadamente 0,4 mm, tan anchas como largas o algo más anchas, sobre filamentos iguales o mayores que ellas, subulados, anchos y comprimidos de afuera hacia adentro. Escamas oblongas, algo espatuladas, a menudo más o menos bífidas, iguales al tubo corolino, o apenas más largas o más cortas, fijas hasta la mitad o poco menos del tubo o la corola; fimbrias casi siempre cortas, poco numerosas y más abundantes cerca del ápice; corona angosta, soldada en casi todo su diámetro al 1/4 basal o poco más del tubo corolino. Ovario obtronco-cónico o subprismático y con la cara superior redondeada. Estilos cilíndricos o apenas subulados, gruesos, más cortos que el ovario; después de la fecundación vuélvense muy subulados, al engrosarse fuertemente en la base. Estigmas amarillos, rugosos, muy deprimidos, de 0,35 a 0,4 mm de ancho. Corola de flor fructificada hasta de 3,2 mm; llega hasta la mitad del fruto o algo menos; lóbulos corolinos bien distanciados en la base. Fruto globoso y sin abertura intrastilar grande (material seco); estilos subulados, muy gruesos en la base (hasta 1,2 mm en la base); disepimento muy desarrollado. Semillas cuatro, o a veces tres, ocráceas, de 1,3-1,5 mm de largo por 1-1,3 mm de ancho. Embrión de 5 a 6 mm, por excepción más largo o más corto, con dos escamas, enroscado hasta 3,5 veces sobre sí mismo.

3 - MATERIALES Y METODOS

Se colectaron flores, frutos y semillas de *Cuscuta obtusiflora* en diversos estadios de desarrollo, en un foco localizado en un cultivo de berenjena ubicado en las inmediaciones de Pando (Departamento de Canelones), durante febrero-marzo de 1995. El tamaño de la muestra ha sido tentativamente estimado rellenando a saturación el volumen de cuatro tubos de ensayo Pyrex estándar, evitando la compresión dentro de los mismos del material colectado para no dañar las piezas florales y permitir el libre flujo del líquido fijador.

Las estructuras colectadas se fijaron en solución fijadora FAA (formol 40%, etanol 70%, ácido acético glacial: 0,5 - 9 - 0,5) por 24 horas en cámara de vacío Precision a temperatura ambiente, siendo luego transferidas a etanol 70% indefinidamente en ambiente no controlado de laboratorio. Se determinaron posteriormente estadios fenológicos florales con ayuda de estereomicroscopio Olympus.

Las piezas a procesar se colorearon transitoriamente en solución etanólica 70% de eritrosina a saturación con el fin de facilitar las posteriores manipulaciones, realizadas en concordancia con la metodología propuesta por Johansen (1940).

La deshidratación se realizó en serie etanólica, para su posterior inclusión en parafina empleando tolueno como fluido intermediario. El microseccionamiento seriado a 5-10 micras se realizó en micrótomo rotatorio Minot. El diseño final de las láminas histológicas se confeccionó con tratamiento citoquímico de doble tinción safranina - fast green con montaje permanente en Bálsamo de Canadá. De esta forma se procesaron alrededor de 30 flores y 30 semillas para su estudio, dando lugar a la realización de 50 láminas histológicas.

Las observaciones se realizaron en microscopio fotónico binocular Olympus. Las deposiciones amiláceas se reconocieron a través del empleo de microscopio de luz polarizada. La documentación microfotográfica se registró en película Kodacolor ASA 400 35 mm, en cámara adosada en fotomicroscopio Olympus Vanox.

4 - RESULTADOS

4.1 - SISTEMA FLORAL

4.1.1 - CALIZ Y COROLA

La anatomía de estos verticilos (fig.4) revela la típica conformación otorgada por dos estratos epidérmicos (adaxial y abaxial) separados por un mesófilo parenquimático multiestratificado.



Fig.4 - Sección floral longitudinal de *C.obtusiflora*. A, androceo; C, corola; G, gineceo; K, cáliz. Barra: 100 μ .

4.1.2 - ANDROCEO

4.1.2.1 - **Antera**

La conformación de la antera pertenece al tipo bilocular tetrasporangiado. En la pared de la antera se distinguen tres estratos (fig.5c):

a)-estrato epidérmico: presenta conformación uniseriada y persiste durante la madurez de la antera.

b)-estrato mecánico (endotecio): se compone por una serie de células en empalizada con esclerosamiento parietal radial.

c)-tapete o estrato nutricional: conformado por un estrato de células prominentes que se fusionan en un sincitio secretor con citoplasma denso muy afín a los colorantes (safranina) que dificulta la observación de los núcleos. En el momento de la meiosis microsporogénica, el tapete presenta actividad picnótica (fig.5b), para posteriormente desagregarse en numerosas microestructuras globulares (corpúsculos de Ubisch) (figs.5c, 5d) observables hasta poco antes de la dehiscencia de la antera.

En el momento de la antesis, la pared de la antera se conforma por la epidermis (en estado atrófico), el endotecio y corpúsculos de Ubisch remanentes (fig.5c).

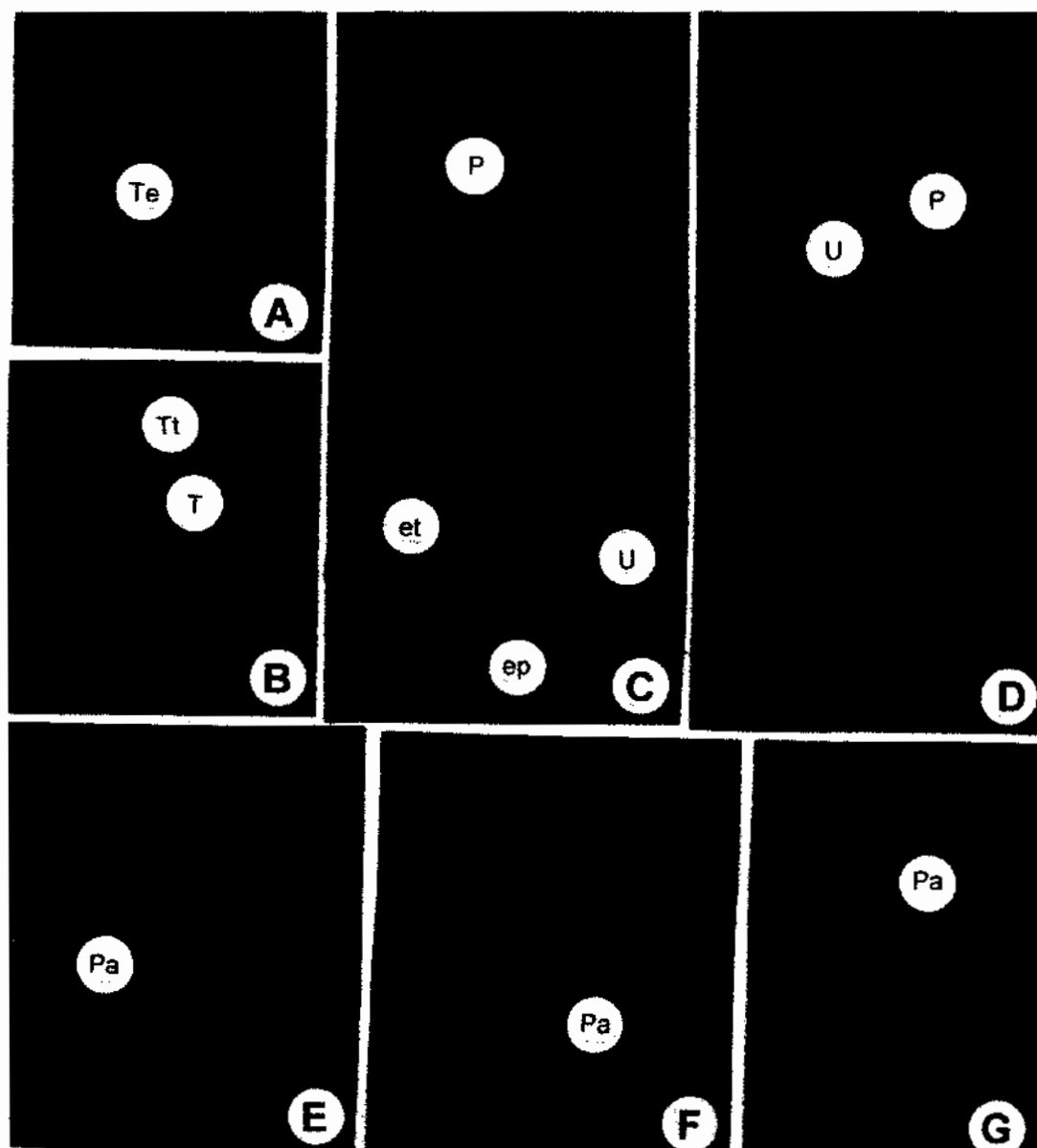


Fig.5 - Desarrollo de la antera y polen. Ep, epidermis; et, endotecio; P, granos de polen; Pa, granos de polen anómalos; T, tapete; Te, tejido esporógeno; Tt, tétrade microspórica; U, corpúsculos de Ubisch. Barra: 20 μ .

4.1.2.2 - Microsporogénesis

En los estadios tempranos de la ontogenia floral, se observan las células madres de las micrósporas (microsporocitos) (fig.5a) en el interior de las anteras jóvenes. Estas células pueden ser diagnosticadas por sus grandes proporciones, citoplasma denso y rico en pequeñas vacuolas, y por su núcleo muy prominente. Los microsporocitos presentan además agregación compacta, sin espacios intercelulares, con consiguiente morfología celular poliédrica.

La meiosis microsporogénica y las consecuentes tétradas de micrósporas resultan difícilmente observables por la intensa reacción cromática del tapete en desagregación (fig.5b). Estas tétradas presentan una probable conformación tetraédrica.

4.1.2.3 - Desarrollo del microgametofito

Las micrósporas experimentan la primera mitosis somatogénica, dando lugar al estadio binucleado del microgametofito en desarrollo (figs.5c, 5d). A partir de esta etapa, el volumen microgametofítico se incrementa y tiene lugar la conformación de la exina, momento a partir del cual la observación del núcleo generativo en el grano de polen se torna dificultosa, por lo cual resulta difícil establecer si el grano de polen maduro es bi o trinucleado.

Resulta de particular interés destacar la observación de numerosos granos de polen que una vez conformada la exina, experimentan un proceso de contracción de sus paredes (figs.5e, 5f, 5g) siendo denominados como granos de polen anómalos.

4.1.2.4 - Grano de polen

Bajo el análisis con microscopía fotónica, los granos de polen presentan una morfología esferoidal de tipo triaperturado, con aberturas elongadas (figs.5c, 5d).

4.1.3 - GINECEO

4.1.3.1 - Ovario

El gineceo (fig.4) es bicarpelar. El ovario es globoso, bilocular y tetraovulado. La placentación es difusa, intermedia entre el tipo axial y el basal. Los dos estilos son lineales, cortos y separados a partir de su punto de inserción en el ápice del ovario. Los estigmas son capitados con superficie papilada. Se destaca la presencia de gran número de idioblastos secretores.

4.1.3.2 - Ovulo

El óvulo maduro pertenece al tipo anátropo, unitégmico y tenuinucelado (fig.6). Su conformación histológica puede ser definida como una masa homogénea de células meristemáticas. El tejido tegumentario proporciona la mayor contribución al volumen ovular; el nucelo persistiría escasamente en las adyacencias al megagametofito. La micrópila - de difícil observación - se conforma por la conjunción apical de los bordes del único tegumento ovular,

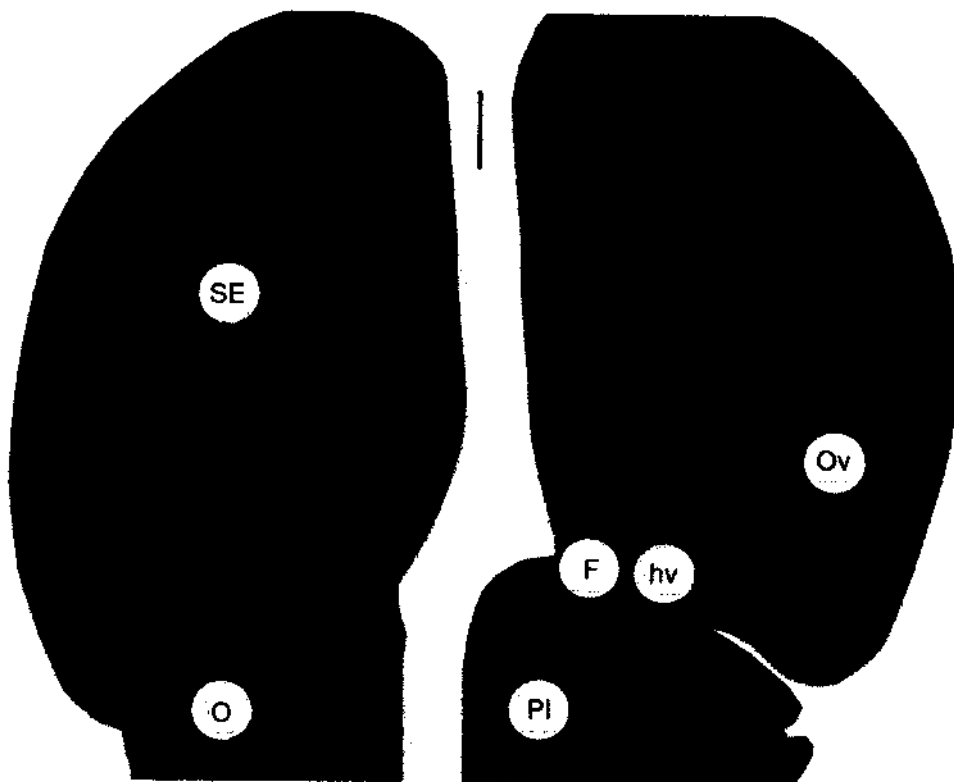


Fig.6 - Ovulos maduros. F, funículo; hv, haz vascular; O, obturador; Ov, óvulo; SE, saco embrionario. Barra: 25µ.

estando por lo tanto conformada por un único canal. En el óvulo maduro se observa la presencia de un obturador de origen placentario (fig.6).

4.1.3.3 - **Megasporogénesis**

Una célula arqueospórica de ubicación subepidérmica (fig.7a) es observada en el momento que el único tegumento ovular crece hasta casi conformar la micropila. Esta célula puede ser reconocida por su gran tamaño, morfología rectángulo-prismática con elongación axial, citoplasma denso y su núcleo muy prominente. Resulta particularmente notoria su ubicación adyacente a una célula epidérmica de similares características, aunque de proporciones menores y morfología triángulo-tetraédrica (fig.7a).

En esta etapa, la célula arqueospórica funciona directamente como célula madre de las megásporas o arquesporocito. La meiosis megasporogénica origina las megásporas en ordenamiento en tétrade lineal (fig.7b). Las tres megásporas de orientación micropilar experimentan un proceso de lisis, resultando la megáspora basal - de núcleo prominente - la única que mantiene su integridad estructural y por lo tanto la viabilidad somatogénica.

4.1.3.4 - **Desarrollo del megagametofito**

En tanto el tejido ovular - de características meristemáticas - prolifera activamente, la megáspora funcional experimenta tres cariocinesis mitóticas sincrónicas. De esta forma se originan los tres estadios cenocíticos intermedios del desarrollo del saco embrionario: binucleado (fig.7c), tetranucleado (fig.7d) y octonucleado.

A partir del estadio binucleado el megagametofito joven incrementa su masa citoplasmática en sentido axial, con eventual digestión de las células ovulares adyacentes. Los dos núcleos del gametofito joven migran a los polos apical y basal. El estadio tetranucleado mantiene este distanciamiento nuclear; interponiéndose entre los dos pares de núcleos una gran vacuola central. Al transcurrir el estadio octonucleado ocurre el ordenamiento final de los núcleos que culmina con la celularización gametogénica.

4.1.3.5 - **Saco embrionario**

La primera estructura en ser reconocida como producto del proceso de celularización del megagametofito es el aparato oosférico (fig.7e). La oósfera

presenta morfología globosa con núcleo central y citoplasma provisto de numerosas vacuolas pequeñas de distribución homogénea. Las sinérgidas presentan forma ganchosa.

La célula media (fig.7e) es binucleada al momento de la antesis. Los núcleos polares, de grandes proporciones, se encuentran embebidos en una masa citoplasmática hialina.

Las células antipodales resultan difusamente discernibles en número y estructura. En el momento de la antesis se encuentran en proceso de muerte celular.

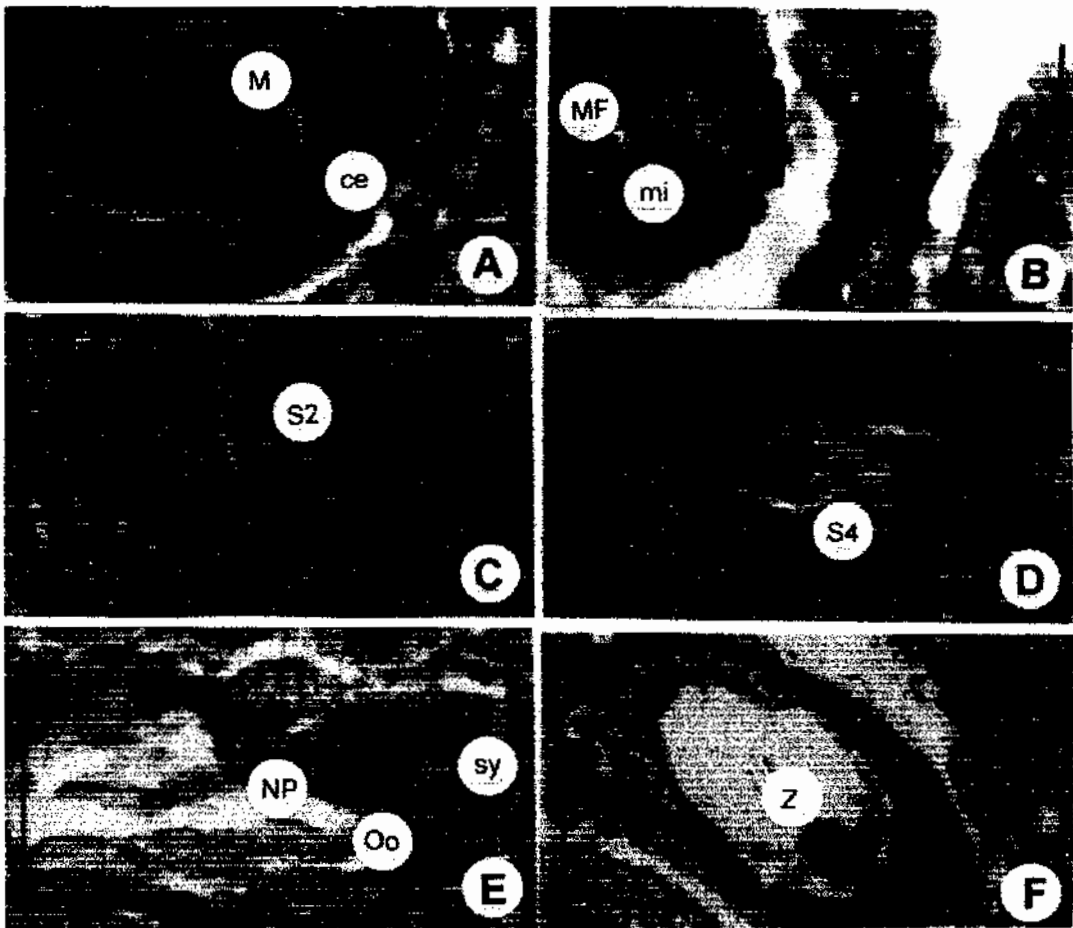


Fig.7 - Megasporogénesis y desarrollo del saco embrionario. Ce, célula epidérmica; M, megasporocito; MF, megáspora funcional; mi, megásporas inviables; NP, núcleos polares; Oo, ósfera; S2, saco embrionario binucleado; S4, saco embrionario tetranucleado; sy, sinérgidas; z, cigoto. Barra: 20 μ .

4.1.4 - SISTEMA REPRODUCTIVO

El desarrollo del polen transcurre con notable anterioridad al del saco embrionario. Se observan granos de polen ya conformados mientras transcurren las etapas cenocíticas del saco embrionario.

Sin embargo, se detectó en forma reiterada la presencia de flores en las cuales el gineceo presenta óvulos fecundados (con cigotos y tubos polínicos perfectamente discernibles), en tanto en el androceo de la misma flor el polen aun persiste dentro de las anteras (fig.8). También se han observado flores en situación excepcional, con la ocurrencia de las primeras divisiones cigóticas y del núcleo del endosperma primario, sin que el polen haya sido liberado.

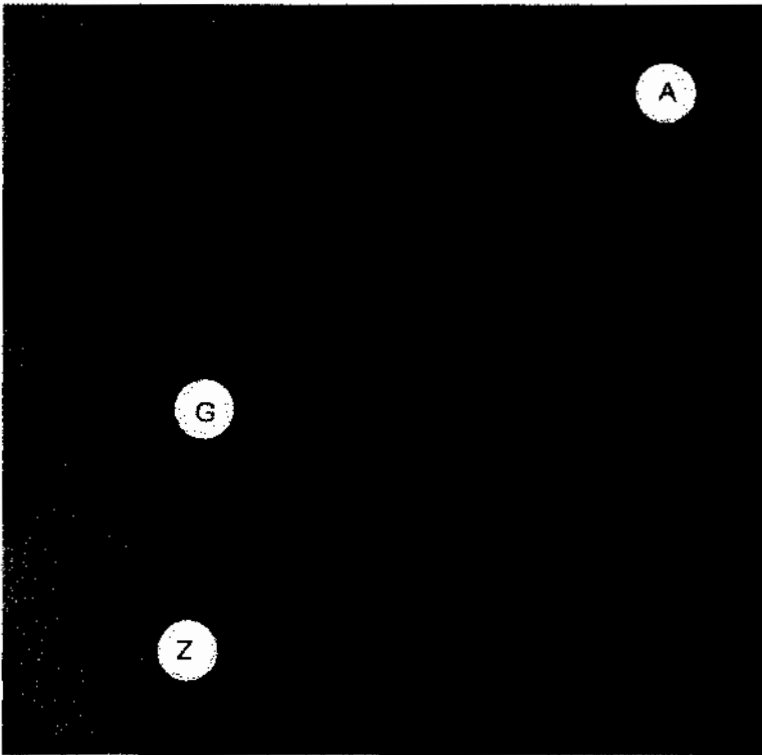


Fig.8 - Evidencias histológicas de alogamia. A, antera cerrada conteniendo los granos de polen; G, gineceo; Z, cigoto. Barra: 25 μ .

4.2 - SISTEMA SEMINAL

Con el fin de optimizar el ordenamiento e integración de las observaciones de la ontogenia de una estructura de notable complejidad como lo es la semilla, se han determinado seis estadios fenológicos seminales en correlación con las etapas del desarrollo embrionario que han podido delimitarse: cigoto, proembrión, embrión globular, embrión transicional, embrión incurvado y embrión helicoidal.

4.2.1 - ETAPA CIGOTICA

4.2.1.1 - Fecundación

El tubo polínico penetra por el canal micropilar (evidenciándose la ocurrencia de porogamia) y a través de la sinérgida funcional se produce la descarga espermática, en tanto la restante sinérgida experimenta un proceso de lisis (fig.9a). La doble fecundación y triple fusión dan lugar a un cigoto esferoidal con numerosas vacuolas de gran tamaño, y un núcleo endospermogénico de notables proporciones.

4.2.1.2 - Cubiertas ovulares (transición óvulo-semilla)

La estructura histológica de las cubiertas esporofítico-maternas (óvulo) consiste en una masa homogénea de células en interfase meristemo-parenquimática. Se constata una contribución predominante del tegumento ovular en su conformación, con reabsorción difusa del nucelo.

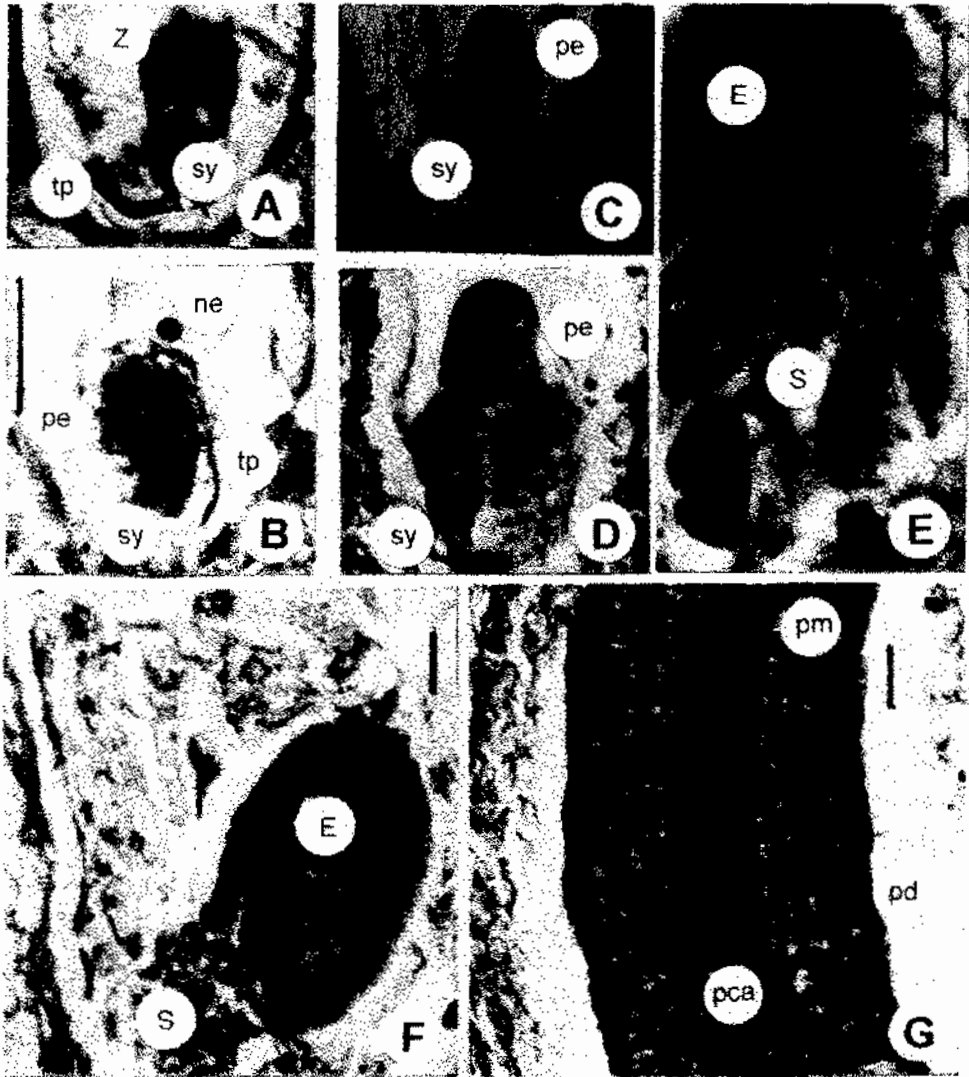


Fig.9 - Embriogénesis cigótica. E, embrión o soma embrional; ne, núcleo del endosperma primario; pca, procámbium; pd, protodermis; pe, proembrión; pm, promeristema fundamental; S, suspensor; sy, sinérgida; tp, tubo polínico; z, cigoto. Barra: 20 μ .

4.2.2 - ETAPA PROEMBRIONAL

4.2.2.1 - Proembrión

El cigoto experimenta un corto período de reposo postfecundatorio. El proceso de implantación cigótica se realiza sobre la región micropilar de la pared del saco embrionario. Durante esta etapa se alcanza el estadio de proembrión unicelular. El mismo resulta caracterizable por la reabsorción vacuolar con densificación citoplasmática por probable incremento de su actividad metabólica, y por el cambio experimentado de forma globoide a piriforme.

La primera división mitótica es transversal (fig.11a), originándose una célula apical y una célula basal que conforman el estadio proembrional bicelular. Esta división celular es continuada por las ulteriores segmentaciones mitóticas embriogénicas (figs.9a, 9b, 9c, 9d) donde la célula apical se divide en plano transverso y sus dos descendientes lo hacen longitudinalmente, originando el soma embrional.

El suspensor es originado a partir de 1-2 divisiones mitóticas sincrónicas longitudinales de la célula proembrional basal (fig.9d). Posteriormente las divisiones mitóticas transcurren en planos diversos. La organogénesis suspensorial corresponde por lo tanto también a un mismo linaje de células.

En algunos casos se detecta la persistencia hasta el fin del estadio proembrional de la sinérgida funcional, así como del tubo polínico (figs.9a, 9b, 9c, 9d).

4.2.2.2 - Endosperma

Durante el reposo postfecundatorio del cigoto, el núcleo endospermogénico se rodea de una masa citoplasmática densa y granulosa adosada al proembrión. Este núcleo primario del endosperma aparenta dividirse en simultaneidad con la primera división embriogénica. Como resultado se originan dos núcleos endospermicos (fig.11a) que presentan proporciones aun mayores que el núcleo precedente. La masa citoplasmática que les envuelve continúa adosada al proembrión, observándose gran número de amiloplastos que demuestran una intensa actividad catabólica.

Durante el proceso de desarrollo del proembrión, los núcleos del endosperma continúan proliferando disponiéndose en un manto citoplasmático

periférico (fig.10). Esta estructura cenocítica se adhiere a los estratos internos de la cubierta seminal en torno a una vacuola central gigante, contactando proximalmente con el proembrión.

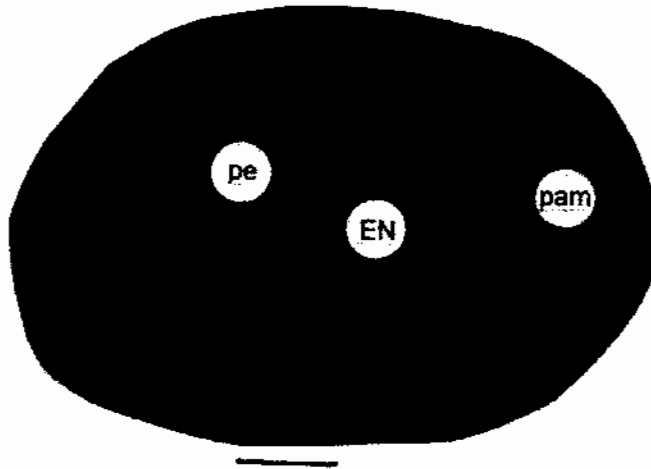


Fig.10 - Semilla en etapa proembrional (sección longitudinal). EN, endosperma nuclear; pam, parénquima amiláceo; pe, proembrión. Barra: 75 μ .

4.2.2.3 - Cubiertas seminales

Los estratos intermedios del tegumento ovular evolucionan a una histología parenquimática. Este tejido se caracteriza por una intensa biosíntesis de almidón (fig.11b) y comprende la mayor parte del volumen seminal (fig.10). Los estratos que contactan con el saco embrionario experimentan una degradación histolítica con liberación de amiloplastos al interior del saco embrionario, como resultado de las secreciones enzimáticas del endosperma.

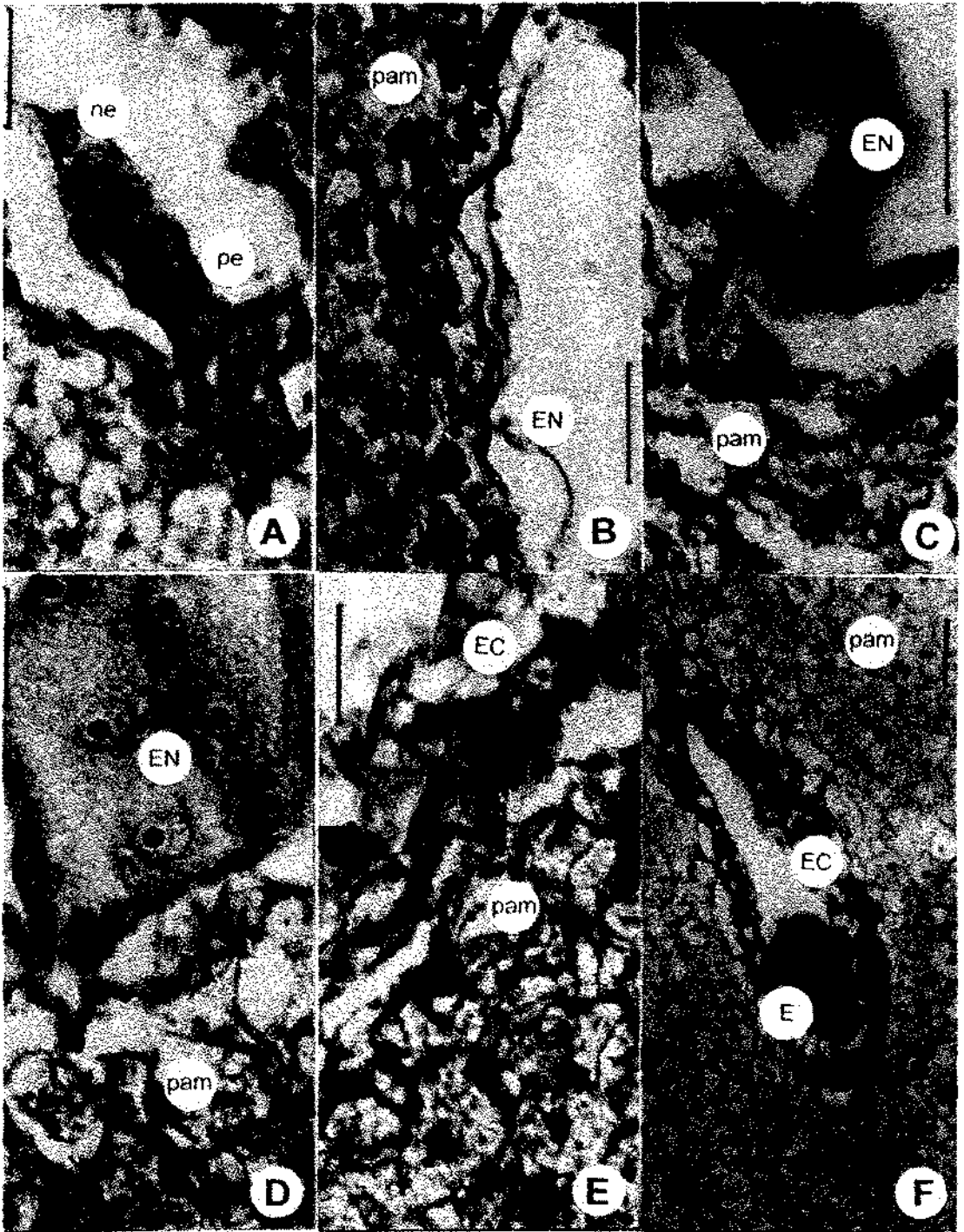


Fig.11 - Endosperma y tejido seminal interno en la embriogénesis temprana. E, embrión; EC, endosperma celular; EN, endosperma nuclear; ne, núcleos del endosperma primario; pam, parénquima amiláceo, pe, proembrión. Barra: 20 μ (A, B, C, D, E), 40 μ (F).

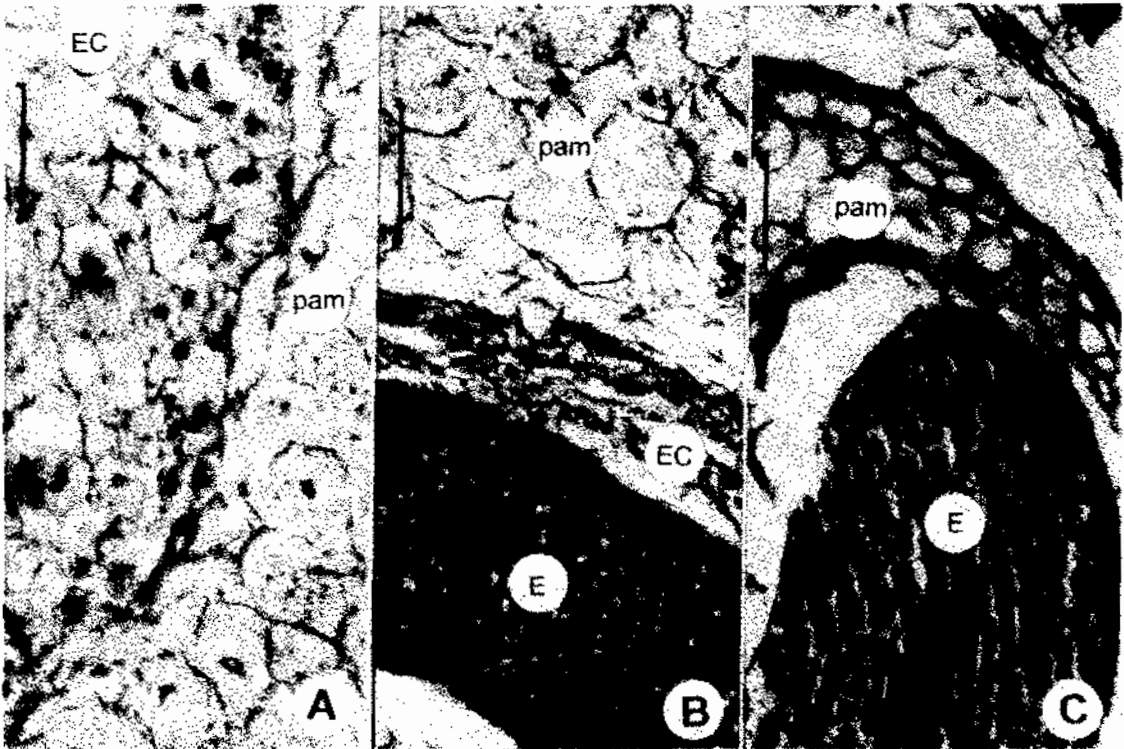


Fig.12 - Endosperma y tejido seminal interno en la embriogénesis tardía. E, embrión; EC, endosperma celular; pam, parénquima amiláceo. Barra: 20 μ .

4.2.3 - ETAPA EMBRIONAL GLOBULAR

4.2.3.1 - Embrión

Cuando a partir del estadio de octante proembrional (fig.9d) resulta netamente apreciable la diferenciación entre el soma embrional y el suspensor, en función de la bipolaridad característica de la embriogénesis, se considera concluida la etapa proembrional. Las células embrionarias (fig.9e) presentan típicas características meristemáticas (citoplasma granuloso muy denso y

nucleolos muy prominentes) sugiriendo una intensa actividad metabólica y de biosíntesis ribosomal.

El suspensor maduro (fig.9e) presenta morfología compacta y demarcación difusa del soma embrional. Las células suspensoriales presentan citoplasma hialino por el gran número de vacuolas existentes. El tamaño de estas células es mayor que el de las células embrionales. Existe un gradiente basípeto de incremento del tamaño celular, lo que determina que las células suspensoriales ubicadas en la base presenten mayor tamaño. Adicionalmente, estas células presentan núcleos gigantes por posibles procesos de endomitosis, sugiriendo una condición haustorial.

4.2.3.2 - **Endosperma**

Durante la etapa embrional globular temprana, el endosperma en su estadio nuclear adopta la morfología de un manto cenocítico (figs.11c, 13) conformado por una masa citoplasmática periférica, densa y granulosa en torno a una enorme vacuola central. Esta masa cenocítica presenta gran número de núcleos muy prominentes que proliferan en forma supernumeraria (fig.11d).

El endosperma nuclear tiende a adosarse a la pared interna del saco embrionario. En los puntos de contacto entre ambas estructuras, puede visualizarse el avance de la degradación periférica de los estratos internos del parénquima amiláceo tegumentario (figs.11c, 11d). Este proceso transcurre en forma centrífuga y se caracteriza por la desorganización y gelificación del tejido amiláceo, con erosión de amiloplastos. Por lo tanto puede reconocerse la actividad de enzimas de los grupos de las pectinasas, celulasas y amilasas.

En la etapa tardía del desarrollo globular del embrión, el endosperma celulariza (figs.11e, 11f) conformando un único estrato de células con núcleos de menor prominencia, si bien prosigue la degradación del parénquima amiláceo.

4.2.3.3 - **Cubiertas seminales**

El parénquima amiláceo tegumentario se manifiesta como un tejido conformado por células poliédricas de disposición compacta, con escasos espacios intercelulares (figs.11b, 11f, 13).

A pesar de ser digerido gradualmente en forma centrífuga por la acción del endosperma, este tejido prolifera acompañando el crecimiento seminal, de

tal forma que sigue ocupando la mayor parte del volumen de la semilla en desarrollo.

En esta etapa puede apreciarse el avanzado grado de diferenciación histológica de la testa (fig.17a). En este sentido, las células que conforman el estrato epidérmico crecen adoptando una morfología prismático-cuboide. Las células pertenecientes a las capas hipodérmica y subhipodérmica se expanden axialmente. En las tres capas, se observa una gran abundancia de amiloplastos.

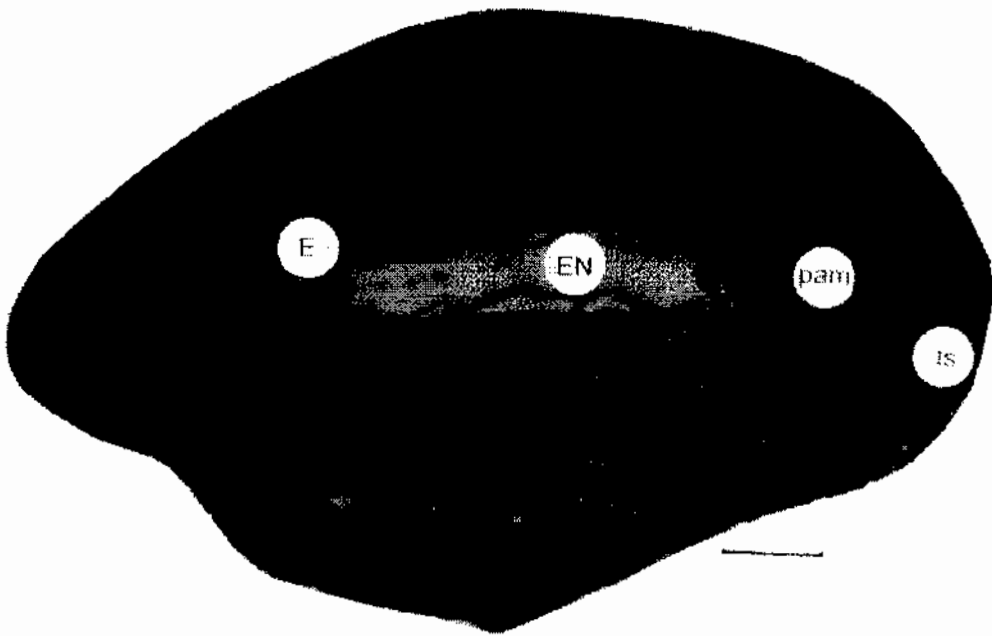


Fig.13 - Semilla en etapa embrional globular (sección longitudinal). E, embrión; EN, endosperma nuclear; pam, parénquima amiláceo; ts, testa en desarrollo. Barra: 75 μ .

4.2.4 - ETAPA EMBRIONAL TRANSICIONAL

4.2.4.1 - **Embrión**

Con posterioridad al estadio de embrión globular, la etapa embrional cordiforme es inexistente en virtud de la no conformación de los primordios cotiledonarios. Por tal motivo se constata un avance lineal-apical del crecimiento embrionario con consecuente pérdida de la morfología globular. Esta etapa es considerada en el presente trabajo como "etapa transicional" (fig.9f) caracterizándose por presentar morfología cortamente oblonga y células embrionarias con características meristemáticas sin diferenciación de meristemas primarios. El suspensor mantiene aun íntegra su estructura, aunque se constata el cese de su crecimiento.

4.2.4.2 - **Endosperma**

La celularización endospérmica avanza con carácter centrípeto dando lugar a la conformación de parénquima endospérmico de células provistas de grandes vacuolas reservantes (figs.9f, 12a, 14). Este tejido aparece desorganizado en la región periembrional, como posible resultado de la secreción de enzimas embrionarias - entre las que se reconoce la actividad de pectinasas - y por la acción mecánica del crecimiento del embrión.

4.2.4.3 - **Cubiertas seminales**

La conformación parenquimática y actividad lítica centrifuga de origen endospérmico de los estratos intermedios de la semilla en desarrollo (fig.14) presentan analogía con lo observado en la etapa precedente.

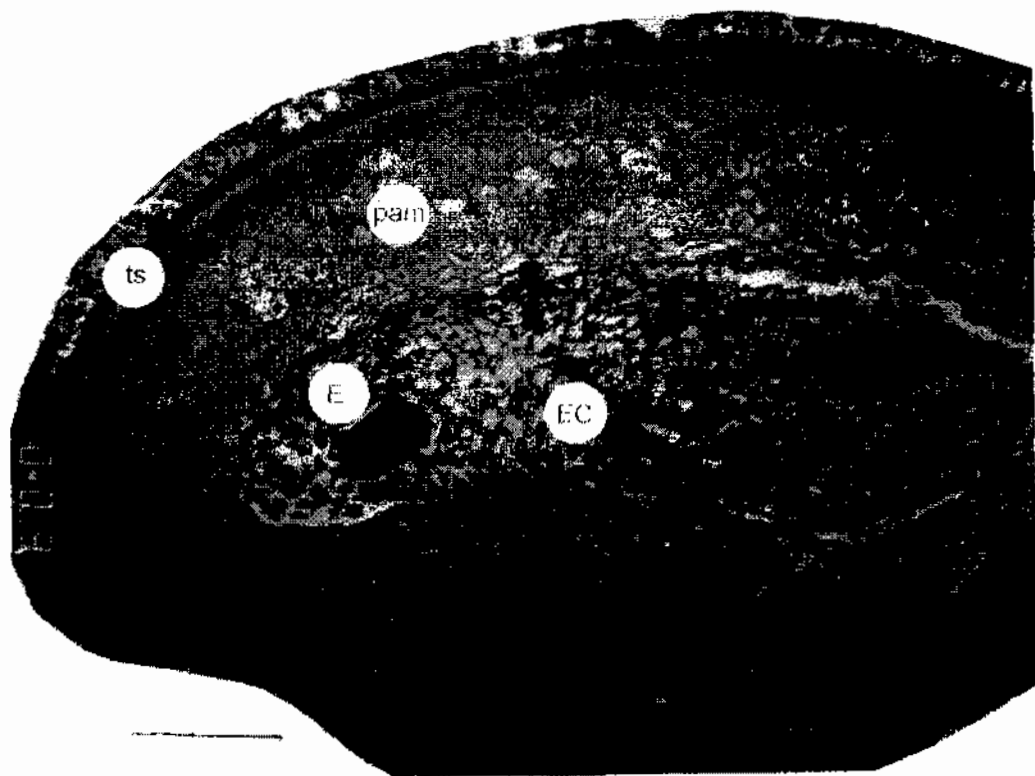


Fig.14 - Semilla en etapa embrional transicional (sección longitudinal). E, embrión; EC, endosperma celular; pam, parénquima amiláceo; ts, testa en desarrollo. Barra: 100 μ .

4.2.5 - ETAPA EMBRIONAL INCURVADA

4.2.5.1 - Embrión

El crecimiento lineal del embrión en el interior de una cavidad seminal de espacio limitado es causal de una temprana curvatura embrional. Esta etapa embrional "incurvada" (figs.9g, 12b) puede ser caracterizada por su morfología "en arco" y por la conformación visible de los tres meristemas primarios: estrato protodérmico muy poco diferenciado, meristema fundamental vacuolado multiestratificado, y un cilindro procambial axial que recorre la mayor parte de la longitud embrionaria. La estructura suspensorial experimenta un proceso de atrofia y reabsorción.

4.2.5.2 - Endosperma

Durante el desarrollo de esta etapa, el tejido endospérmico es comprimido contra la pared del saco embrionario y reabsorbido gradualmente por el embrión (figs.9g, 12b). Se constató la desorganización tisular del endosperma a través de la separación de las células que lo conforman por posible acción de pectinasas de secreción embrionaria. Las células del endosperma manifiestan un proceso atrófico: compresión, disminución del tamaño vacuolar, picnosis de núcleos y colapso final a partir de la zona de contacto con el embrión.

4.2.5.3 - Cubiertas seminales

El parénquima amiláceo tegumentario permanece como en las etapas anteriores de la embriogenia (fig.12b) . Este tejido solamente ha sido digerido en la zona de contacto con el endosperma. Sus células poliédricas siguen presentando una gran biosíntesis amilácea, manifestando un notable incremento volumétrico con respecto a etapas anteriores. Se observan idioblastos secretores dentro del parénquima (fig.15).

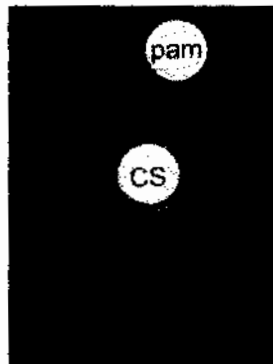


Fig.15 - Célula secretora interna de la semilla en desarrollo. CS, célula secretora; pam, parénquima amiláceo.
Barra: 20 μ .

4.2.6 - ETAPA EMBRIONAL HELICOIDE

4.2.6.1 - Embrión

El crecimiento lineal del embrión, que continúa en esta etapa, es proporcionalmente mayor que el de la cavidad seminal que lo alberga. Este fenómeno de alometría determina una contención mecánica a la intensa

elongación embrionaria, teniendo como consecuencia sucesivos incurvamientos del embrión que le confieren la morfología helicoidal que caracteriza a la última etapa de su desarrollo. El embrión aparece enroscado de dos a tres veces.

La estructura histológica del embrión sigue presentando las mismas características observadas en la etapa precedente, resultando significativa la presencia del conspicuo cilindro procambial axial a lo largo de casi todo el cuerpo del embrión. La ausencia de diferenciaciones organológicas embrionarias notorias dificulta la detección de estructuras de naturaleza cotiledonaria y de la plúmula.

4.2.6.2 - Endosperma

Se observa la total ausencia de remanentes de naturaleza endospermica, habiendo sido totalmente reabsorbidos por el embrión (figs. 12c, 16).

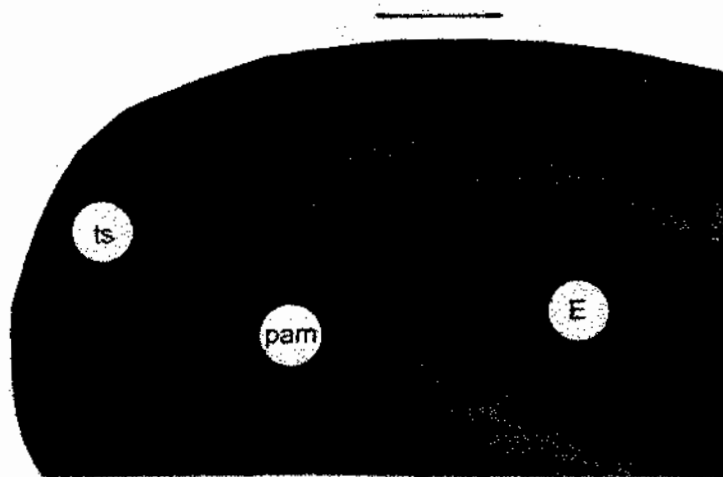


Fig.16 - Semilla en vías de madurez (sección longitudinal). E, embrión; pam, parénquima amiláceo gelificado; ts, testa. Barra: 100 μ .

4.2.6.3 - Cubiertas seminales

En esta etapa de la ontogenia seminal, el tejido parenquimático amiláceo tegumentario es totalmente degradado por acción apoplástica del sistema enzimático embrional.

El reconocimiento visual a nivel microscópico permite identificar la acción de un complejo de peptidasas. Esta desorganización de la estructura tisular y celular tiene como resultado la conformación de un gel que rellena la mayor parte de la cavidad seminal, entre los estratos mecánicos de la testa y el embrión (figs.12c, 16).

La estructura anatómica de la testa se encuentra ya plenamente definida en esta etapa, bajo forma de un sistema triestratificado, en el que pueden ser diferenciados un estrato epidérmico esclerosado y dos estratos esclerenquimáticos en empalizada subyacentes (fig.17).

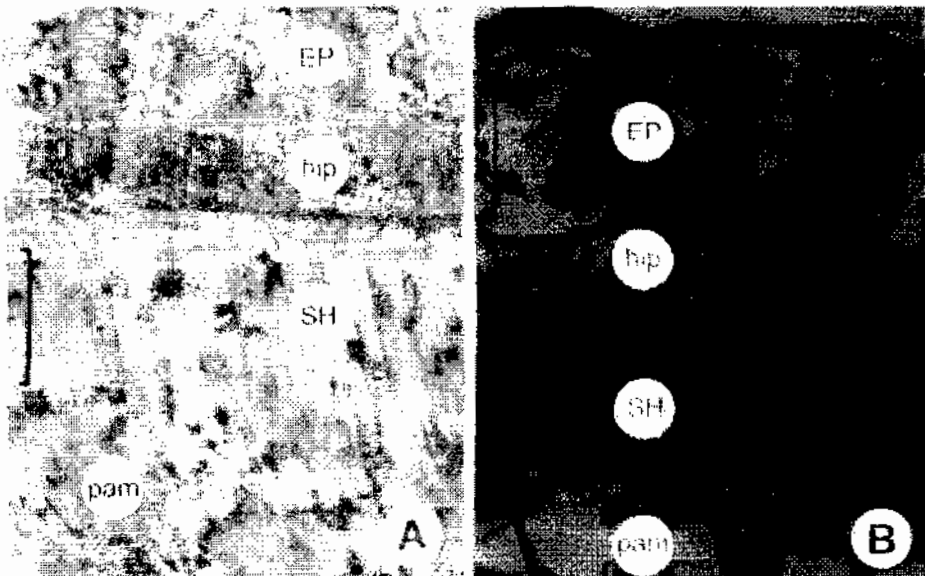


Fig.17 - Estadios juvenil y maduro de las cubiertas seminales (testa). EP, estrato epidérmico; hip, estrato hipodérmico; pam, parénquima amiláceo; SH,, estrato subhipodérmico. Barra: 20μ.

El estrato epidérmico está conformado por células prismáticas muy voluminosas, con pared fina esclerificada. El citoplasma se encuentra

reabsorbido y la amplia cavidad luminal presenta grandes amiloplastos. Se observa una gruesa cutinización distal.

El estrato hipodérmico se encuentra constituido por pequeñas esclereidas lineales alargadas radialmente. Se verifica la presencia de paredes celulares finas y esclerificadas, con lumen amplio, citoplasma reabsorbido y amiloplastos persistentes.

El estrato interno subhipodérmico presenta grandes macroesclereidas lineales alargadas radialmente, con esclerosamiento parietal de gran espesor y cavidad luminal reducida.

5 - DISCUSION

La presencia de estructuras secretoras en diferentes órganos es una de las características anatómicas de *Cuscuta* (Hunziker, 1950). En estructuras reproductivas de *Cuscuta tinctoria* (Vázquez Santana *et al.*, 1992) han sido observadas células secretoras de notable similitud con las de *Cuscuta obtusiflora*. Su ubicación interna permitiría descartar implicancias con algún mecanismo de polinización entomófila.

De acuerdo con Davis (1966) la organología de la antera en Cuscutaceae es tetrasporangiada con ontogenia del tipo Dicotiledóneo. Por su parte, Johri *et al.* (1992) señalan que su conformación histológica comprende la epidermis, el endotecio fibroso, un estrato intermedio efímero y un tapete secretor de células multinucleadas. Vázquez-Santana *et al.* (1992) reportan una estructura anatómica similar para la antera de *Cuscuta tinctoria*, aunque señalan la ocurrencia de un tapete secretor de células binucleadas en ésta última.

En *Cuscuta epithimum* (Davis, 1966) se señala la restauración de la mononuclearidad de las células del tapete por fusión de los núcleos de las mismas. La presencia de corpúsculos de Ubisch -producto de la desorganización del tapete- se observa en diversas especies (Davis, *op.cit.*), entre ellas podemos citar a *Cuscuta tinctoria* (Vázquez Santana *et al.*, 1992), y *Cuscuta obtusiflora* de acuerdo con nuestros resultados.

Las células arqueosporicas funcionan directamente como células madres de las microsporas, con citoquinesis postmeiótica simultánea y tétrades

microspóricas de conformación tetraédrica, isobilateral o decusada (Davis, 1966; Johri *et al.*, 1992). Los referidos autores señalan que los granos de polen en *Cuscuta* son normalmente trinucleados, poliporados o colpados, con exina lisa o espinulada. Diversos autores citados por Hunziker (1950) establecen al grano tricolpado como el tipo más frecuente en este género. La morfología del polen de *Cuscuta obtusiflora* que ha sido observada en este trabajo presenta gran concordancia con esta última referencia.

En *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) se reportan diversas irregularidades en la ontogenia palinológica: divisiones postmeióticas supernumerarias de los núcleos de las microsporas con consecuentes fenómenos de polisporia y políadas; citoquinesis postmeiótica irregular, incompleta o ausente; granos de polen de origen esporógeno no meiótico; desarrollo de sacos polínicos en la pared del ovario. Estos autores proponen una causalidad ambiental de estos fenómenos, que debería ser confirmada y caracterizada. Por otra parte, *Cuscuta epithymum* manifiesta ocurrencia de granos de polen compuestos (originados por ausencia de separación de las microsporas) con diversidad en el número y función de sus núcleos (Fedortschuck, 1931; en: Johri *et al.*, 1992). En *Cuscuta tinctoria*, sin embargo, el desarrollo del polen carece de anomalías (Vázquez Santana *et al.*, 1992).

Aunque ninguno de estos raros fenómenos en relación al desarrollo del polen se ha evidenciado en *Cuscuta obtusiflora*, la detección de una gran proporción de granos de polen contraídos requiere un estudio en profundidad que permita establecer sus causas. Debe destacarse la posibilidad de que esta anomalía pudiera ser consecuencia del proceso de deshidratación de las piezas florales o de las secciones histológicas que la técnica utilizada requiere.

El óvulo en *Cuscuta* es de tipo anátropo, unitégmico y tenuinucelado (Davis, 1966; Johri *et al.*, 1992), lo que concuerda con nuestros resultados. La existencia de un obturador ovular placentario es considerada frecuente (Johri *et al.*, op.cit.; Vázquez Santana *et al.*, 1992).

Los resultados del presente trabajo en cuanto al desarrollo del saco embrionario de *Cuscuta obtusiflora* confirman la ocurrencia de una ontogenia megagametofítica del Tipo Polygonum, a partir del componente calazal de una tétrade lineal de megásporas, tal como ha sido observado en investigaciones previas (Rodríguez Pontes, 1998b). Esta modalidad de desarrollo del megagametofito es la de mayor frecuencia en este género (Davis, 1966; Johri

et al., 1992), aunque en *Cuscuta reflexa* pueden detectarse sacos embrionarios pareados pertenecientes al Tipo Allium (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) y en *Cuscuta chinensis* pueden coexistir los Tipos Allium y Polygonum (Parvathi *et al.*, 1978; en: Johri *et al.*, op.cit.). La presencia de sacos embrionarios múltiples ha sido considerada como una adaptación evolutiva propia de las angiospermas de baja tasa de polinización, con el fin de incrementar los niveles de fertilización (Xing-Shuping *et al.*, 1998).

La observación difusa de las células antipodales de *Cuscuta obtusiflora* ha sido también señalada para *Cuscuta tinctoria* (Vázquez Santana *et al.*, 1992); estas células son consideradas efímeras para este género (Davis, 1966).

El evento fecundatorio porogámico con persistencia de una sinérgida y del tubo polínico, como ha sido observado en la presente investigación en *Cuscuta obtusiflora*, es concordante con observaciones preliminares (Rodríguez Pontes, 1998a,b). La persistencia postfecundatoria de una sinérgida ha sido también descrita para *Cuscuta monogyna*, *Cuscuta lupuliformis* y *Cuscuta reflexa* (Fedortschuck, 1931; Johri & Tiagi, 1952; Tiagi, 1965; en: Johri *et al.*, 1992) en tanto este aspecto no es mencionado en *Cuscuta tinctoria* (Vázquez Santana *et al.*, 1992).

Las evidencias histoembriológicas constatadas en esta investigación avalan la ocurrencia de un sistema reproductivo alógamo, con fuerte tendencia estructural a la protandria a pesar de que el polen maduro pudiera tener - de acuerdo con nuestros resultados - una liberación tan tardía como ser en etapas post-fecundatorias bastante avanzadas (cigoto a proembrión bicelular) de la misma flor. Funcionalmente - por lo tanto - estas flores se comportarían como protogínicas. Debe recordarse el carácter predominantemente alógamo de *Cuscuta epithimum* - concordante con nuestras observaciones en *Cuscuta obtusiflora* - o autógamo en *Cuscuta campestris* (Holm *et al.*, 1997), siendo el sistema reproductivo de las cúscutas una entidad de notoria variabilidad interespecífica (Hunziker, 1950; Holm *et al.*, op.cit.).

La embriogenia del género *Cuscuta* es de difícil tipificación, aunque se señala su correspondencia intermedia con los Tipos Cariofiláceo y Solanáceo (Davis, 1966). Los resultados de la presente investigación revelan casi total concordancia con estudios embriológicos precedentes en *Cuscuta obtusiflora* (Rodríguez Pontes, 1998a). Las diferentes interpretaciones embriogénicas se realizan según Natesh & Rau (en: Johri & Rao, 1984).

La tétrade proembrional de ocurrencia más probable corresponde a la Serie C1 - Primer Orden, de la que deriva una embriogenia aparentemente próxima al Tipo Solanáceo de Johansen. No obstante, la ausencia de contribución de la célula proembrional basal *cb* en la conformación del soma embrional de *Cuscuta obtusiflora*, así como el carácter voluminoso y/o poliploide de las células suspensoriales, sugiere que podría tratarse en realidad de un Tipo Cariofiláceo modificado en forma acorde a la tétrade proembrional de la que deriva (Primer Orden, en lugar de Segundo).

Interpretando estos resultados según otros sistemas embriogénicos, puede establecerse una razonable correspondencia con el VI Megarquetipo de Souèges, y con el Megarquetipo C de Mestre.

La organología del embrión maduro de *Cuscuta obtusiflora* es acorde con lo citado acerca de este tópico para el género (Hunziker, 1950; Johri *et al.*, 1992). La presencia de un conspicuo cilindro procambial a lo largo de la mayor parte de la estructura embrionaria, reflejaría la contribución dominante del hipocótilo en la conformación del soma embrional (Esau, 1985, Johri *et al.*, 1992).

En *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) se mencionan raros fenómenos de porogamia múltiple, mitosis espermáticas supernumerarias y apomixis gametofítica apogámica con poliembrionía. Los referidos autores señalan además la condición haustorial y el polimorfismo del suspensor de esta especie. La organología suspensorial en *Cuscuta* oscila entre la poco diferenciada de *Cuscuta epithyllum*, *Cuscuta hyalina* y *Cuscuta planifolia* (Davis, 1966) a la ya señalada condición masiva y haustorial en *Cuscuta reflexa*, a la que también parece corresponder *Cuscuta obtusiflora*.

El desarrollo del endosperma en las diversas especies de *Cuscuta* que se han investigado corresponde al tipo Nuclear con posterior celularización a partir del polo micropilar (Davis, 1966; Johri *et al.*, 1992).

En *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) el endosperma celulariza con aparente sentido centrípeto, presenta paredes celulares finas y carecería de reservas nutricionales. También se reportan fenómenos de poliploidía originados en esta estructura por lisis parietal con fusiones protoplástica y nuclear. El endosperma periférico de esta especie se convierte por lo tanto en una estructura cenocítica que digiere internamente la cubierta seminal, en tanto el endosperma central es gelificado y digerido por el

embrión. En *Cuscuta rostrata* (Smith, 1934; en: Davis, 1966) el endosperma nuclear acumula más de 1500 núcleos libres antes de celularizar.

Los resultados obtenidos en *Cuscuta obtusiflora*, tanto en el presente trabajo como en estudios preliminares (Rodríguez Pontes, 1996, 1997) reflejan una condición intermedia entre las dos especies anteriormente citadas. Se constata una gran proliferación nuclear con posterior celularización en forma análoga a *Cuscuta rostrata* (Smith, op.cit.), aunque con actividad degradativa similar al endosperma de *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, op.cit.).

La condición albuminada o exalbuminada de las semillas maduras de *Cuscuta* ha sido considerada un punto de controversia (Hunziker, 1950). Autores nacionales (Carámbula, 1981) consideran al mucílago intraseminal - de importante rol germinativo - como de naturaleza endospérmica.

En *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri, 1992) persisten escasos remanentes del endosperma celular, en tanto - de acuerdo con nuestros resultados - la reabsorción endospérmica por parte del embrión en *Cuscuta obtusiflora* presenta carácter total. El mucílago intraseminal de esta especie presenta por lo tanto origen esporofítico materno (tegumento óvulo-seminal) y es originado por la lisis enzimática del parénquima amiláceo.

La ontogenia del tegumento seminal (testa) de *Cuscuta obtusiflora* deriva de los estratos externos del tegumento ovular y corresponde por lo tanto al tipo exotético (Esau, 1985; Johri *et al.*, 1992; Rodríguez Pontes, 1998c).

La activa biosíntesis de almidón detectada en *Cuscuta obtusiflora*, tanto en la presente investigación como en trabajos previos (Rodríguez Pontes, 1996, 1997) ha sido también constatada en *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) y *Cuscuta tinctoria* (Vázquez Santana *et al.*, 1992). El origen de esta deposición amilácea podría ser considerado como un desvío particional de los fotoasimilados del hospedante (Rodríguez Pontes, 1996), ya que es en general aceptado que la actividad fotosintética de *Cuscuta* tendería a manifestarse en mayor grado en los estadios tempranos de emergencia (plántula) (Holm *et al.*, 1997; Pattee *et al.*, 1965).

La triple estratificación esclerenquimática que conforma la testa, y su gruesa cutinización, pueden considerarse como elementos concordantes con el tipo de dormición exógeno físico reportado para semillas de Convolvulaceae (Barceló *et al.*, 1987).

Estudios de larga data focalizados en aspectos estructurales y taxonómicos de la histología seminal en 8 especies de *Cuscuta* (Kamensky, 1928; en: Hunziker, 1950) definen un patrón estructural triestratificado de la testa, resultando acorde con nuestras observaciones: una epidermis esclerosada y dos capas de esclerenquima en empalizada. Sin embargo, el espesor de los dos estratos externos puede ser igual, o diferir a favor de uno u otro en función de la especie analizada (Kamensky, op.cit.).

La conformación histológica seminal de *Cuscuta obtusiflora* presenta grandes similitudes con la de *Cuscuta pedicellata* (Lyshede, 1985) en donde además la microscopía electrónica SEM (Lyshede, op.cit.) reveló la existencia de evaginaciones papilosas de la epidermis en estado húmedo que favorecen una eventual dispersión seminal por viento (aerocoria) y agua (hidrocoria).

En *Cuscuta reflexa* (Johri & Tiagi, 1952; en: Johri *et al.*, 1992) se ha detectado la eventual ocurrencia de una doble estratificación de la capa esclerenquimática subhipodérmica. Un estudio reciente (Vázquez Santana *et al.*, 1992) realizado en *Cuscuta tinctoria* interpreta la estructura tegumentaria como un estrato epidérmico amiláceo, un estrato hipodérmico sin descripción histológica, y un estrato en empalizada interno, todo lo cual manifiesta notable concordancia con los resultados obtenidos en la especie considerada en el presente estudio.

Los resultados de esta investigación, así como los datos ya señalados en las referencias bibliográficas, permiten suponer que la existencia de uno a más estratos esclerenquimáticos seminales externos (testa) conformados por células de gran tamaño con presencia de pared fina y lumen amplio, contribuiría a disminuir la densidad relativa de estas semillas con respecto a la del medio acuoso en el que eventualmente se hallen, facilitando su dispersión hidrocórica.

De esta forma, una gruesa cutícula seminal como la de *Cuscuta obtusiflora* aseguraría protección frente a una imbibición prematura y una consecuente germinación a destiempo, con pérdida de potencial de inóculo.

6 - CONCLUSIONES

Se presentan a continuación algunas conclusiones que pueden extraerse a partir del presente estudio de la organogénesis reproductiva de *Cuscuta obtusiflora*:

a)- El sistema reproductivo de esta especie corresponde al tipo sexual alógamo, con fuerte tendencia estructuralmente protándrica, pero funcionalmente protogínica, y ausencia de evidencias de eventos apomícticos.

b)- El hipocótilo representa la contribución más importante a la masa embrional. La rudimentaria diferenciación organológica del embrión - ausencia de cotiledones - permite establecer que es poco probable que el embrión pueda acumular gran cantidad de reservas nutricionales, como ocurre por ejemplo en los cotiledones de las leguminosas. El tejido fundamental hipocotiledonario sería el sitio más probable de reserva nutricional embrionaria.

c)- En virtud de la limitada capacidad de fotosíntesis de *Cuscuta*, el almidón depositado a nivel intraseminal puede considerarse como una resultante del fitoparasitismo, en carácter de un probable desvío de fotoasimilados del hospedante, reflejando las bajas de su rendimiento productivo.

d)- El mucílago intraseminal -rico en glúcidos- originado por gelificación del parénquima amiláceo tegumentario, cumpliría un rol germinativo por expansión durante la imbibición seminal. De esta forma facilitaría la abertura de las cubiertas seminales y la emergencia del embrión.

e)- La semilla madura, dada la reabsorción del tejido endospermico, debe ser considerada como exalbuminada. Por lo tanto, deben descartarse posibles implicancias germinativas de un endosperma inexistente en la madurez seminal.

f)- Sobre la base de lo mencionado en b), c), d) y e), una eventual persistencia de las plántulas emergentes en espera de contactar con un hospedante podría explicarse por la capacidad autotrófica (fotosíntesis) temporaria que se ha reportado para *Cuscuta*. Se requiere verificación experimental de esta hipótesis para esta especie.

g)- El tegumento de la semilla madura de esta especie presenta una conformación acorde al tipo de dormición seminal que es reportado para

Cuscuta. Las adaptaciones de su estructura interna favorecerían su dispersión por agua (hidrocoria), acorde con su hábitat habitual (humedales y cursos hídricos). Esta característica debe ser tomada en cuenta al implementar sistemas de riego u otras técnicas que involucren este mecanismo de dispersión seminal de la maleza estudiada.

7 - RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo la caracterización a nivel microestructural de la organogénesis de las estructuras reproductivas de la maleza fitoparásita *Cuscuta obtusiflora* H.B.K.

A tales efectos se emplean metodologías estándar de histología vegetal para análisis fotomicroscópico.

Los resultados obtenidos evidencian un sistema reproductivo de tipo sexual alógamo (estructuralmente protándrico y funcionalmente protogínico), con ausencia de eventos apomícticos. El evento fecundatorio es porogámico con persistencia de una sinérgida. El desarrollo de la semilla manifiesta una masiva deposición amilácea, la total reabsorción del endosperma, un embrión mayormente conformado por el eje hipocótilo, y una cubierta seminal adaptada tanto a una dormición seminal exógena física como a un mecanismo de dispersión hidrocórica.

8 - SUMMARY

The purpose of this work is the microstructural-level study of the reproductive structures organogenic pattern of the phytoparasitic weed *Cuscuta obtusiflora* H.B.K.

Diverse standard plant histological methodologies are employed for LM analysis. The results show an allogamic sexual-type reproductive system with structural protandry and functional protogyny, and the absence of apomictic events. The fertilization event is porogamic with a synergid persistence. The seed ontogenic process shows a massive starchy deposition, the complete endosperm reabsorption, a mainly hypocotyledonary embryonic conformation, and diverse seed cover anatomical features in relation to both physical seed dormancy and hydrocory.

9 - BIBLIOGRAFIA

1. AGHA, A.M., SATTAR, E.A. & AHMED, G. 1996. Pharmacological study of *Cuscuta campestris* Yuncker. *Phytoterapy Research* 10(2): 117-120.
2. ARCHANA, S., MADHAV, S., SINGH, A. & SINGH, M. 1997. Incompatibility of *Cuscuta haustoria* with the resistant hosts - *Ipomoea batatas* L. and *Lycopersicon sculentum* Mill. *Journal of Plant Physiology* 159 (5): 592-596.
3. AHLAWAT, Y.S., PANT, R.P., LOCKHART, B.E.L., SRIVASTAVA, M., CHAKRABORTY, N.K. & VARMA, A. 1996. Association of a badnavirus with citrus mosaic disease in India. *Plant Disease* 80 (5): 590-592.
4. BACKHOUSE, N., DELPORTE, C., NEGRETE, R., SALINAS, P., PINTO, A., ARAVENA, S. & CASSELS, B.K. 1996. Antiinflammatory and antipyretic activities of *Cuscuta chilensis*, *Cestrum parqui* and *Psoralea glandulosa*. *International Journal of Pharmacognosy* 34(1): 53-57.
5. BALDEV, B. 1962. In vitro studies of floral induction on stem apices of *Cuscuta reflexa* Roxb., a short day plant. *Ann.Bot.* 26: 173-180.
6. BARCELO, J., NICOLAS, R., SABATER, B. & SANCHEZ, R. 1987. *Fisiología Vegetal*. Madrid. Pirámide S.A. 843 p.
7. BASAÑEZ, D. 1993. *Cuscuta* spp. Una maleza a tener en cuenta. Banco de Seguros del Estado. *Almanaque* 1993. Montevideo. pp. 280-282.
8. CARAMBULA, M. 1981. Producción de Semillas de Plantas Forrajeras. Montevideo. Ed.Hemisferio Sur. 518 p.
9. CHOUDHURY, N.K. & SAHU, D. 1999. Photosynthesis in *Cuscuta reflexa*: a total plant parasite. *Photosynthetica* 36(1-2): 1-9.
10. DAVIS, G. 1966. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. New York. Wiley. 518 p.

11. DEY, D.K. & PATI, B.R. 1998. Record of parasitism of *Cuscuta reflexa* Roxb. on *Digitaria ciliaris* Pers. Journal of Economic and Taxonomic Botany 22(1): 235-236.
12. ESAU. K. 1985. Anatomía Vegetal. Barcelona. Ed.Omega. 779 p.
13. FRATIANNE, D.G. 1965. The interrelationship between the flowering of dodder and the flowering of some long and short day plants. Amer.J.Bot. 52: 556- 562.
14. FURUHASHI, K., TADA, Y., OKAMOTO, K., SUGAI, M., KUBOTA, M. & WATANABE, M. 1997. Phytocrome participation in induction of haustoria in *Cuscuta japonica*, a holoparasitic flowering plant. Plant and Cell Physiology 38 (8): 935-940.
15. GHOSH, D.K., DAS, A. K., SHYAM, S., SINGH, S.J., AHLAWAT, Y.S. & SINGH, S. 1999. Occurrence of witches'-broom, a new phytoplasma disease of acid lime (*Citrus aurantiifolia*) in India. Plant Disease 83 (3): 302.
16. GUO, F.G., LI, Y.H. & DENG, F.Z. 1998. Screening biological control fungi for dodders on woody hosts. Chinese Journal of Biological Control 14(4): 159-162.
17. HAIDAR, M.A., ORR, G.L. & WESTRA, P. 1997. Effects of light and mechanical stimulation on coiling and prehaustoria formation in *Cuscuta*. Weed Research (Oxford) 37: 219-228.
18. _____, _____ & _____. 1998. The response of dodder (*Cuscuta* spp.) seedlings to phytohormones under various light regimes. Annals of Applied Biology 132(2): 331-338.
19. _____ & _____. 1999. The response of *Cuscuta planiflora* seedlings to red and far-red, blue light and end-of-day irradiations. Annals of Applied Biology. 134 (1): 117-120.
20. HIBBERD, J.M., BUNGARD. R.S., PRESS, M.C., JESCHKE, W.D., SCHOLES, J.D. & QUICK, W.P. 1998. Localization of photosynthetic metabolism in the parasitic angiosperm *Cuscuta reflexa*. Planta 205(4): 506-513.

21. HOLM, L.G., PLUCKNETT, D.L., PANCHO, J., HERBERGER, J.P. 1977. The world's worst weeds. Distribution and biology. Honolulu. University of Hawaii. 609 p.
22. _____, DOLL, J., HOLM, E., PANCHO, J., HERBERGER, J. 1997. World weeds. Natural histories and distribution. New York. John Wiley & Sons, Inc. 1129 p.
23. HUNZIKER, A. 1950. Las especies de *Cuscuta* (Convolvulaceae) de Argentina y Uruguay. Universidad de Córdoba. 356 p.
24. HUTCHISON, J.M. & ASHTON, F.M. 1979. Effects of desiccation and scarification on the permeability and structure of the seedcoat of *Cuscuta campestris*. Am.J.Bot. 66: 40-46.
25. _____ & _____. 1980. Germination of field dodder *Cuscuta campestris* Weed Sci. 28: 330-333.
26. JESCHKE, W.D., BAURNEL, P. & RATH, N. 1995. Partitioning of nutrients in the *Cuscuta reflexa-Lupinus albus* association. Aspects of Applied Biology 42: 71-79.
27. _____, BAIG, A. & HILPERT, A. 1997. Sink-stimulated photosynthesis, increased transpiration and increased demand-dependent stimulation of nitrate uptake: nitrogen and carbon relations in the parasitic association *Cuscuta reflexa-Coleus blurnei*. Journal of Experimental Botany 48 (309): 915-925.
28. _____ & HILPERT, A. 1997. Sink-stimulated photosynthesis and sink-dependent increase in nitrate uptake: nitrogen and carbon relations of the parasitic association *Cuscuta reflexa-Ricinus communis*. Plant, Cell and Environment 20(1): 47-56.
29. JOHANSEN, D. 1940. Plant microtechnique. New York. Mc.Graw-Hill.
30. JOHRI, B.M. & RAO, P.S. 1984. Experimental embryology. In Embryology of Angiosperms. B.M. Johri ed. Berlin, New York, Tokio. Springer-Verlag. pp. 735-802.

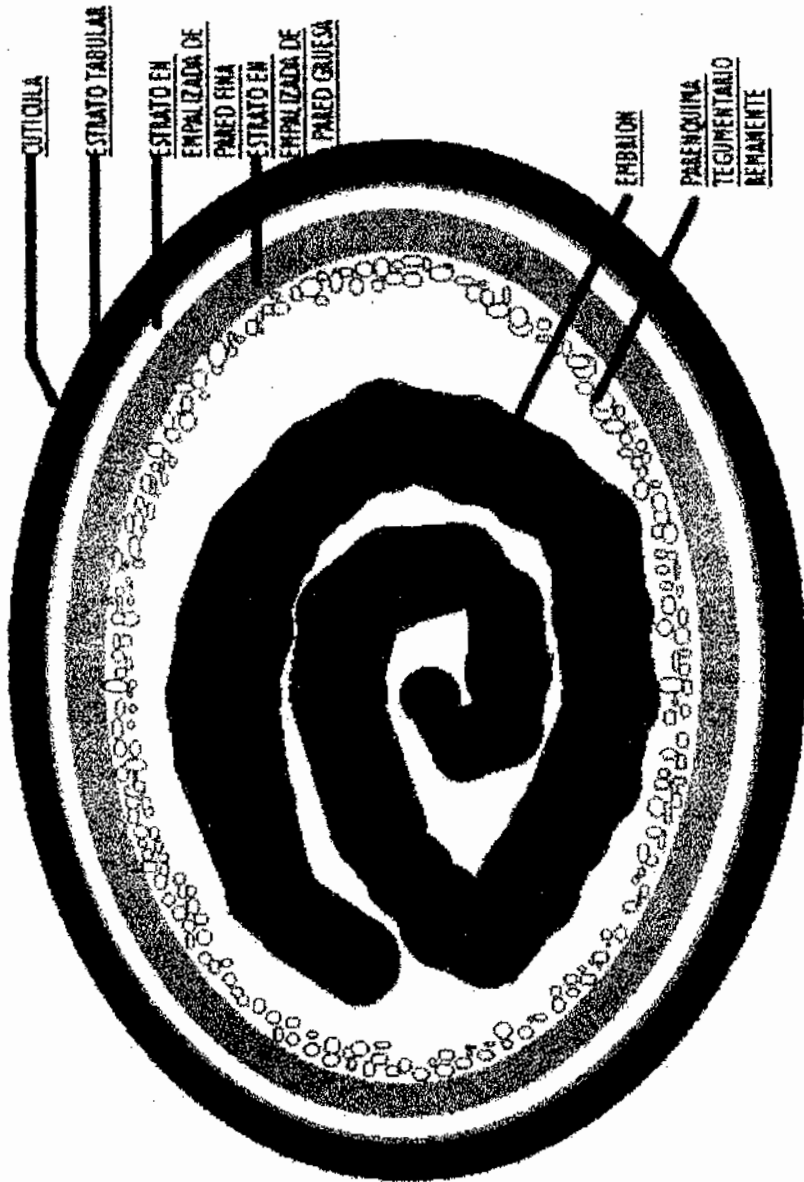
31. _____, AMBEGAOKAR, K.B., & SRIVASTAVA, P.S. 1992. Comparative Embryology of Angiosperms. Berlin. Springer Verlag.
32. LITTLEFIELD, N.A., PATTEE, H.E., & ALLRED, K.R. 1966. Movement of sugars in the alfalfa-dodder association. Weeds 14: 52-54.
33. LOFFLER, C., CZYGAN, F.C. & PROKSCH, P. 1997. Phenolic constituents as taxonomic markers in the genus *Cuscuta* (Cuscutaceae). Biochemical Systematics and Ecology 25(4): 297-303.
34. LOI, N., CARRARO, L., MUSETTI, R., PERTOT, Y & OSLER, R. 1995. dodder transmission of two different MLOs from plum trees affected by "leptonecrosis". Acta Horticulturae 386: 465-470.
35. LYSHEDE, O. B. 1985. Morphological and anatomical features of *Cuscuta pedicellata* and *Cuscuta campestris*. Nord.J.Bot. 5: 65-77.
36. MAHMOOD, N., PIACENTE, S., BURKE, A., KHAN, A. & PIZZA, C. 1997. Constituents of *Cuscuta reflexa* are anti-HIV agents. Antiviral Chemistry and Chemotherapy 8(1): 70-74.
37. MARCONE, C., SERIO, F-DI., RAGOZZINO, A & DI SERIO, F. 1995. Peach rosette: a disease associated with mycoplasma-like organisms. Acta Horticulturae 386: 471-479.
38. _____, HERGERHAHN, F., RAGOZZINO, A. & SEEMULLER, E. 1999. Dodder transmission of pear decline, European stone fruit yellows, *Rubus* stunt, *Picris echioides* yellows and cotton phyllody phytoplasms to periwinkle. Journal of Phytopathology 147 (3): 187-192.
39. NATESH, S. & RAU, M.A.1984. The embryo. In Embryology of Angiosperms. B.M. Johri ed. Berlin. Springer-Verlag. New York, Tokio. pp. 377-443.
40. NAGENDRAN, C.R. & DINESH, M.S. 1989. The Embryology of Angiosperms. A Classified Bibliography (1965-1985). Indira Publishing House. Michigan. 240 p.
41. NICKRENT, D. 1999. The Parasitic Plant Connection. Southern Illinois University at Carbondale. <http://www.science.siu.edu/parasitic-plants/>

42. NUN, N.B. & MAYER, A.M. 1999. Culture of pectin methylesterase and polyphenoloxidase in *Cuscuta campestris*. *Phytochemistry* 50(5): 719-727.
43. OCHOA, M.C. 1995. Germinación de semillas de *Cuscuta indecora* var. *longisepala*. In XII Congreso Latinoamericano de Malezas (1995, Montevideo). Libro de resúmenes. Asociación Latinoamericana de Malezas. p.38.
44. PATTEE, H.E., ALLRED, K.R. & WIEBE, H.H. 1965. Photosynthesis in dodder. *Weeds* 13: 193-195.
45. PENNINGS, S.C. & CALLAWAY, R.M. 1996. Impact of a parasitic plant on the structure and dynamics of salt marsh vegetation. *Ecology* 77(5): 1410- 1419.
46. PEREZ - AMADOR, M. C., ARREOLA, L., MARQUEZ GUZMAN, J. & GARCIA ARGAEZ, A. 1996. Taxonomic markers of the family Convolvulaceae in four species of *Cuscuta*. *Phyton* (Buenos Aires) 58(1-2): 115-118.
47. PREETI - SHARMA, SRIVASTAVA, C.N. & SHARMA, P. 1998. Relative efficacy of some important plant tissue extracts against *Culex* larvae. *Journal of Entomological Research* 22(4): 377-380.
48. RAJ - KUMAR, JITENDRA, M., KUMAR, R. & MOHAN., J. 1994. Transmission of lentil mosaic virus. *Legume-Research* 17 (3-4): 217-221.
49. RIOS, A., GIMENEZ, A., CARAMBULA, M. & CIBILS, R., 1990. Dos malezas problema: cúscuta y gramilla. I.N.I.A. La Estanzuela. 19 p.
50. _____, FORMOSO, F., VINCENT, I. & RISSO, D. 1997. Susceptibilidad de leguminosas forrajeras a aplicaciones de glifosato. In VII Congreso Nacional de Ingeniería Agronómica - Jornada de Siembra Directa (1997, Montevideo). Libro de resúmenes. Asociación de Ingenieros Agrónomos del Uruguay. pp 129 -130.

51. RODRIGUEZ-PONTES, M. 1996. Interacción cúscuta-berenjena: caracterización del desarrollo de la viabilidad seminal en la dinámica fitoparasitaria. In VIII Congreso Latinoamericano de Horticultura (1996, Montevideo). Libro de resúmenes. Confederación Latinoamericana de Horticultura. p.140.
52. _____. 1997. El sistema seminal de *Cuscuta obtusiflora* como fosa competitiva con su sustrato biotrófico. In IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología (1997, Montevideo). Libro de resúmenes. Asociación Latinoamericana de Fitopatología. p.298
53. _____. 1998a. Zygotic embryogenesis in *Cuscuta obtusiflora*: the future active inocule conformation. *Fitopatología* 33(1): 46.
54. _____. 1998b. A preliminary determination of anfimixis/apomixis in *Cuscuta obtusiflora*: embryo sac development and conformation. *Fitopatología* 33(1): 46-47.
55. _____. 1998c. Comparative microstructural analysis of the tegumentary ontogeny between *Cuscuta* and Faboid Legumes. *Fitopatología* 33(1): 45-46.
56. SCATTOLINI, A. 1998. Fanerógamas patógenas. Facultad de Agronomía. 4 p.
57. TADA, Y., SUGAI, M. & FURUHASHI, K. 1996. Haustoria of *Cuscuta japonica*, a holoparasitic flowering plant, are induced by the cooperative effects of far-red light and tactile stimuli. *Plant and Cell Physiology* 37 (8): 1049-1053.
58. TEXAS A&M UNIVERSITY. BIOINFORMATICS WORKING GROUP. 1999. Vascular Plant Image Gallery. <http://www.csd.tamu.edu/FLORA/mi13/mi13059.jpg>
59. TSIVION, Y. 1978. Possible role of cytokinins in nonspecific recognition of a host and in early growth of haustoria in the parasitic plant, *Cuscuta campestris*. *Bot.Gaz.* 139: 27-31.

60. UNIVERSITY OF CALIFORNIA AT LOS ANGELES - DIVISION OF LIFE SCIENCES. 1999?. Parasitic Plants.
<http://www.lifesci.ucla.edu/botgard/ht...s/lifeforms/parasiticplants/index.htm>
61. URUGUAY. REGISTRO NACIONAL DE LEYES Y DECRETOS. 1981. D.L.15.173. Tomo 104 (1): 720-731.
62. VAZQUEZ-SANTANA, S., MARQUEZ-GUZMAN, J., ENGLEMAN, M. & MARTINEZ-MENA, A. 1992. Development of ovule and anther of *Cuscuta tinctoria* (Cuscutaceae). *Phytomorphology* 42 (3-4): 195-202.
63. XING-SHU PING, CHEN-ZHI DUAN & LU-AN MIN. 1998. Development of ovules and embryo sacs in *Ostrya virginiana* (Betulaceae) and its systematic significance. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 36(5): 428-435.
64. ZHUK, A.V. 1997. Haustoria morphogenesis and origin in *Cuscuta* species (Cuscutaceae). *Botanicheskii-Zhurnal* 82 (5): 1-15.

10 - ANEXO



REPRESENTACION DIAGRAMATICA DE LA ESTRUCTURA DE LA SEMILLA MADURA DE CUSCUTA OBTUSIFLORA.