The background of the entire image is a close-up, slightly blurred photograph of Bacopa plants. The plants have small, white, five-petaled flowers with prominent yellow centers. The leaves are small, green, and appear to be arranged in a dense, creeping pattern. The overall lighting is bright and natural, suggesting an outdoor setting.

**“Morfo-anatomía ecológica
en macrófitas acuáticas del
Macrosistema Iberá: el caso
de las especies de *Bacopa*
(Gratiolleae-Plantaginaceae)”**

María Guadalupe Gómez

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AGRIMENSURA



TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

*"Morfo-anatomía ecológica en macrófitas acuáticas
del Macrosistema Iberá: el caso de las especies de
Bacopa (Gratioleae-Plantaginaceae)"*

LICENCIATURA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

AUTOR: GÓMEZ, MARIA GUADALUPE
DIRECTOR: SOSA, MARÍA DE LAS MERCEDES
CO-DIRECTOR: GONZALEZ, ANA MARÍA

INSTITUTO DE BOTÁNICA DEL NORDESTE (IBONE)

2022

AGRADECIMIENTOS

Tengo la suerte de decir que fueron muchas las personas que me acompañaron en este proceso. Quiero agradecer profundamente a:

Mis directoras: Merce, por ser mi mentora, por ayudarme y entenderme, por aprender conmigo y enseñarme con una paciencia que pocos tienen, y por transmitir esa vocación por la ciencia que no es fácil de hallar. Gracias a Ana, por abrirme las puertas del laboratorio, por responder cada una de mis inquietudes y por dejarme trabajar al lado suyo, es admirable la pasión de algunos por su trabajo.

Gracias a mi familia, a mi mamá, mi papá y mi hermano por darme su apoyo incondicional, ustedes son un lugar seguro, siempre.

Gracias a la facultad pública de mi provincia, por dejarme estudiar y aprender en sus aulas. Y también gracias por presentarme a personas tan grandiosas, no hubiese llegado a ningún lado si no fuese por ustedes chicos. Gracias Sofi, Cami, Joaquín, Mauri y Tomi por estar, aprender al lado de ustedes me llena de orgullo.

Gracias Pipi por escucharme, una de las cosas que me enseñó la biología es que no importa lo maravillado que estés, si no lo compartís con la gente que amas no tiene sentido. Gracias por hacerme ese lugar siempre.

Gracias a mis amigos, por saber llenar mis días con risas. No imagino un día de mi vida sin saber que ustedes están ahí, siempre dispuestos a ponerme una sonrisa o a prestarme un hombro.

Simplemente gracias.

ÍNDICE

RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES.....	11
Objetivo General.....	11
Objetivos Particulares.....	11
HIPÓTESIS DE TRABAJO Y PREDICCIONES.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Material estudiado	12
a. Revisión de bibliografía y de material de herbario	13
b. Estudios de distribución.....	13
c. Estudios morfo-anatómicos.....	13
d. Estudios estadísticos	15
RESULTADOS.....	16
Estudios morfológicos	16
Estudios de distribución.....	20
Estudios anatómicos.....	23
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA.....	35
EVALUACIÓN DEL DIRECTOR.....	39
EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA.....	40
OBSTÁCULOS Y DIFICULTADES EN EL DESARROLLO DEL PLAN.....	40

ÍNDICE TABLAS

TABLA 1. Caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos utilizados con su codificación	18
TABLA 2. Distribución de las especies de <i>Bacopa</i> en las Ecorregiones y los Complejos Ecosistémicos de Argentina de acuerdo a Rodríguez <i>et al.</i> (2012)	22
TABLA 3. Caracteres diferenciales de la anatomía de las hojas de las especies de <i>Bacopa</i>	24
TABLA 4. Caracteres anatómicos diferenciales del tallo de las especies de <i>Bacopa</i>	30

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Aspecto general de las plantas estudiadas	17
Figura 2. Fenograma resultante del agrupamiento UPGMA de la matriz de distancia ($r= 0,702$) de las especies de <i>Bacopa</i>	19
Figura 3. Distribución geográfica de las especies de <i>Bacopa</i> presentes en la provincia de Corrientes de acuerdo a las Ecorregiones de Rodríguez <i>et al.</i> (2012).	21
Figura 4. Microfotografías de tricomas en hoja y tallo de las especies de <i>Bacopa</i> (MEB, MO).	25
Figura 5. Microfotografías de transcortes de hoja de las especies de <i>Bacopa</i> (MO).	27
Figura 6. Ilustraciones y microfotografías de MEB de estomas en hojas y tallos de <i>Bacopa</i> .	28
Figura 7. Microfotografías de transcortes de tallo de las especies de <i>Bacopa</i> (MO).	31
Figura 8. Microfotografías de detalles de transcortes de tallo (MO)	32

“Morfo-anatomía ecológica en macrófitas acuáticas del Macrosistema Iberá: el caso de las especies de *Bacopa* (Gratiolleae-Plantaginaceae)”

RESUMEN

El género *Bacopa* (Gratiolleae-Plantaginaceae) está constituido por especies distribuidas en su mayoría en la región Neotropical. Este género reúne especies macrófitas que crecen en grandes humedales como el Macrosistema Iberá, donde se identificaron 8 de las 12 especies de *Bacopa* que crecen en la Argentina. Estas plantas han sufrido una serie de adaptaciones morfológicas, anatómicas y eco-fisiológicas que se ven reflejados en sus órganos vegetativos. A partir del análisis de la estructura interna (anatomía), de la estructura externa (morfología); del estudio de los ciclos biológicos y sus bioformas se podrán elaborar hipótesis sobre las probables interacciones de estas plantas con su hábitat y su posible aporte a la dinámica y composición de los humedales. Los antecedentes anatómicos en las especies acuáticas de *Bacopa* son muy escasos, limitándose solo a estudios anatómicos en dos especies. Para cumplir con el trabajo propuesto se planteó una revisión del material del herbario CTES; se registró información morfológica, geográfica y ambiental de los ejemplares observados, posteriormente se realizó un análisis exo-morfológico y anatómico de cinco de las especies que crecen en el Sistema Iberá, y una especie de Paraguay con características similares. Para el estudio de la anatomía foliar y caulinar se realizaron cortes paradormales y transversales a mano alzada y con micrótopo rotativo a partir de material previamente fijado, los que fueron analizados mediante microscopio estereoscópico, microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido. Todas las especies presentes en el Macrosistema Iberá fueron estudiadas morfológicamente, con los datos obtenidos se elaboró una matriz con los caracteres relevantes taxonómicamente, para su análisis estadístico, y por último se confeccionó una clave dicotómica con caracteres de fácil observación. Los estudios anatómicos, permitieron encontrar diferencias entre las especies de *Bacopa* analizadas, en relación a la hoja: tipos de tricomas, distribución y densidad de estomas, y en el tipo de mesófilo. En relación al tallo, se caracterizaron dos patrones de aerénquima cortical que se relacionan con los ambientes que habitan las especies y sus adaptaciones al mismo.

INTRODUCCIÓN

Bacopa Aubl. es un género perteneciente a la tribu Gratioleae (Plantaginaceae), con cerca de 50 especies concentradas en la región Neotropical, y algunas pocas distribuidas en África tropical (Souza & Giulietti, 2009). En el extremo sur de Sudamérica se conocen 17 especies de *Bacopa* y en la Argentina crecen 12 de ellas (Sosa *et al.* 2018). Este género está bien representado en grandes humedales neotropicales como el Pantanal (Pott & Pott, 1997, 2000; Pott *et al.* 2011), razón por la cual algunas especies son utilizadas como ornamentales en acuarios. Otro de los grandes humedales que se encuentra en América del Sur corresponde a la Ecorregión Esteros del Iberá, formado por un sistema de esteros, bañados, lagunas someras y cursos de distinto orden interconectados (Neiff, 2004). En el Sistema Iberá, se registraron 8 especies: *Bacopa congesta* Chodat & Hassl., *B. dubia* Chodat & Hassl., *B. monnieri* (L.) Wettst., *B. paraguayensis* (S. Moore) Hassl., *B. rotundifolia* (Michx.) Wettst., *B. salzmännii* (Benth.) Wettst. ex Edwall, *B. scabra* (Benth.) Descole & Borsini var. *scabra* y *B. verticillata* (Pennell & Gleason) Pennell (Arbo & Tressens, 2002).

Las estrategias ecológicas adquiridas durante la evolución de este género, les permitió establecerse en distintos tipos de ambientes, tanto terrestres como acuáticos, razón por la cual muchas especies son consideradas macrófitas (Pott & Pott, 1997; Pott *et al.* 1989; Sabino *et al.* 2015). Las macrófitas acuáticas son un grupo de plantas que se adaptaron a vivir en condiciones especiales sobre la superficie del agua o en zonas saturadas de agua, cumpliendo un rol ecológico fundamental, son autótrofos macroscópicos que crecen como formas sumergidas, emergentes y flotantes en ecosistemas acuáticos (Chambers *et al.* 2007). Las macrófitas son "ingenieros de ecosistemas", ya que contribuyen con las propiedades físicas de los ecosistemas acuáticos; alteran la hidráulica y favorecen el entorno fluvial estabilizando los sedimentos y reduciendo la velocidad de la corriente (Polvi & Sarneel, 2018). A su vez, regulan la química del agua (p. ej., agua y solutos, oxígeno, carbono y nutrientes) y sostienen otra biota acuática y procesos biológicos como la producción primaria y el pastoreo (Lacoul & Freeman, 2006; Thomaz & Cunha, 2010; O' Hare *et al.* 2018). Por último, las macrófitas constituyen sustratos ideales para el crecimiento microbiano que forma plataformas de biopelículas con características únicas, complejas y generan interacciones biológicas interdependientes (Eriksson, 2001).

Bacopa monnieri, se utiliza desde hace tiempo como medicinal, por sus principios neuro-farmacológicos y potencial antimicrobiano debido a la presencia de sustancias fitoquímicas como alcaloides, flavonoides, glucósidos, saponinas y otros constituyentes importantes como bacósidos, bacopasidos y bacopasaponinas. Los metabolitos secundarios de *B. monnieri*, determinaron su potencial uso para el tratamiento de la epilepsia, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la isquemia y neoplasias (Shalini *et al.* 2021). Además de su posible aplicación terapéutica, recientemente se han descubierto propiedades fitorremediadoras en *B. monnieri*, ya que pueden actuar como filtro natural limpiando las aguas mediante la absorción, la acumulación y la inmovilización de los contaminantes disueltos (Ahire *et al.* 2014). También se ha sugerido que puede ser una planta modelo para estudiar la tolerancia al estrés (Khandare *et al.* 2011;

Shanmugam *et al.* 2020).

Otra especie que crece en la provincia de Corrientes, pero no se ha registrado en el macrosistema Iberá, es *B. australis* V.C. Souza, utilizada en el paisajismo acuático y cultivada en acuarios, porque forma un cojín verde elegante y decorativo; la misma está siendo objeto de estudio biotecnológico, en cultivos *in vitro* para su micropropagación (Nugraha *et al.* 2017; Yunita *et al.* 2018).

Los estudios anatómicos en el género están limitados a pocas especies, se estudiaron los órganos vegetativos de *Bacopa caroliniana* (Walter) B.L. Rob., *B. monnieri* y *B. myriophylloides* (Benth.) Wettst. (Lersten & Gunning, 1975; Semchechen, 2004; Varshney *et al.* 2017). También se realizó un estudio comparativo de las raíces de *B. salzmännii* y *B. monnierioides* (Cham.) B.L. Rob., en correlación con el medio donde viven (Bona & Morretes, 2003).

El conocimiento de los caracteres morfo-anatómicos de las plantas acuáticas puede revelar adaptaciones al ambiente y manifestar cambios ecológicos de los mismos (Sandulescu *et al.* 2016). A través de dichos estudios se pueden inferir manifestaciones de stress o contaminación ambiental; y también permiten detectar el potencial fitorremediador de las plantas nativas, lo que podría derivar en resultados más eficientes en la limpieza de los ambientes contaminados (Wood & Mc-Atamney, 1994; Baruah *et al.* 2014; Guittonny-Philippe *et al.* 2015; Napaldet *et al.* 2019; Olanant *et al.* 2020). El uso de rasgos morfo-anatómicos vegetativos puede proporcionarnos información cuantitativa para explicar la ecología de las macrófitas (Dalla-Vecchia *et al.* 2020).

El valor taxonómico de los caracteres anatómicos para la correcta ubicación de muchas especies de eudicotiledóneas ha sido ampliamente sustentado por diversos autores, existiendo determinados caracteres que son exclusivos del grupo. Además de los estudios bioquímicos, genéticos y fisiológicos, los taxónomos han encontrado en el análisis de la anatomía foliar y caulinar, así como también en aproximaciones de los patrones en los indumentos epidérmicos, la posibilidad de ampliar el espectro de información valiosa a la hora de agrupar las especies por sus características diferenciales (Stace, 1966).

Los estudios anatómicos en otras plantas acuáticas, incluyen la presencia de un aerénquima bien desarrollado como una de las principales características de las macrófitas, sin embargo, como estos tejidos también están presentes en plantas terrestres y de humedales, no siempre es posible utilizar su presencia o ausencia para distinguir las especies acuáticas de las demás especies. Por ello se plantearon patrones específicos de aerénquima como un tipo de adaptación de las plantas a la inundación, los cuales pueden ser un carácter útil para inferir la taxonomía y la filogenia de las plantas acuáticas (Lee *et al.* 2007; Jung *et al.* 2008).

El análisis de la anatomía foliar y caulinar de especies de un género cercano a *Bacopa* como *Stemodia* L. (Sosa, 2005, 2008) permitió establecer diferencias entre las especies basadas exclusivamente en caracteres anatómicos. En dichos trabajos también se estableció una correlación entre los caracteres morfo-anatómicos y el ambiente donde viven. Se pretende avanzar en el estudio de la anatomía vegetativa ecológica de

algunas especies de *Bacopa*, que son representativas de los ambientes de humedales, a fin de describirlas anatómica y morfológicamente y evaluar cuales aspectos pueden ser atribuidos a adaptaciones a su hábitat específico.

OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES

Objetivo General

- Efectuar estudios morfo- anatómicos, con énfasis en las estructuras vegetativas de especies de *Bacopa* que crecen en humedales del Macrosistema Iberá, a fin de conocer las adaptaciones de las plantas al ambiente.

Objetivos Particulares

- Caracterizar morfológicamente las especies de *Bacopa* que crecen en el Macrosistema Iberá.
- Georreferenciar a las especies para confeccionar mapas de distribución de las macrófitas.
- Establecer los límites morfológicos de las especies de *Bacopa* para su correcta identificación a través de claves dicotómicas.
- Identificar las bioformas de las plantas acuáticas del género *Bacopa*.
- Analizar la anatomía vegetativa de entidades representativas de cada bioforma.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

El estudio morfo-anatómico de las estructuras vegetativas aporta información relevante sobre la biología de las macrófitas, permitiendo conocer las adaptaciones al medio donde crecen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron morfológicamente las 8 especies que crecen en el Macrosistema Iberá. Se llevaron a cabo estudios anatómicos en cinco de estas especies y en *Bacopa axillaris* (Benth.) Standl., especie colectada en zonas húmedas del Paraguay, a fines de realizar estudios comparativos de ambientes similares. En material estudiado se listan las especies analizadas morfológica y anatómicamente, estas últimas se destacan con la sigla FAA (formol: alcohol etílico: ácido acético).

Material estudiado:

***Bacopa axillaris*: Paraguay.** Dpto. Amambay, Bella Vista, 11/03/2018, De Madrignac & Sosa 760 (CTES); De Madrignac & Sosa 762 (CTES) (FAA); Cordillera. Dpto. Eusebio Ayala, 15/03/1982, Edith Lurvey 436 (CTES).

***Bacopa congesta*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Ituzaingó: Playadito, 20/01/1993, Schinini 27575 (CTES); Predio Santo Domingo, 15/04/2008, Keller *et. al.* 5342 (CTES); Santa Rita, 6/03/1987, Krapovickas 41232 (CTES) (FAA). Dpto. Santo Tomé, 15 Km de Gobernador Virasoro, 5/02/1972, Krapovickas 20956 (CTES). Misiones. Dpto. Capital: Garupá, Bañado del arroyo Zaimán, 18/03/08, Sosa *et al.* 266 (CTES) (FAA). **Paraguay.** Dpto. Amambay: Bella Vista, 10/03/2018, De Madrignac & Sosa 2014 (CTES); 11/03/2018, De Madrignac & Sosa 2024 (CTES).

***Bacopa dubia*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Bella Vista, Desmochado, 4º Sección, 9/08/1998, Salgado 38 (CTES). Dpto. Capital, Laguna Brava, 16/04/1973, Cristóbal 1108 (CTES). Dpto. Mburucuyá, camino al Parque Nacional Mburucuyá, 28/10/2021, Sosa & Gómez 301 (CTES) (FAA). Dpto. San Cosme, Las Lomas, 26/02/2015, Medina & Salas 863 (CTES); Km 7 entre ruta 12 y Paso de la Patria, 6/11/1966, Krapovickas 12678 (CTES); 20 km E de Corrientes, 23/11/1981, Cristóbal & Schinini 1859 (CTES).

***Bacopa monnieri*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Concepción, Tabay, 03/04/1969, Arbo 122 (CTES); Santa Rosa, 02/11/2021, Sosa & Gómez 303 (CTES) (FAA). Dpto. Lavalle, 3 Km E Yataity Calle, ruta 120, Schinini 19195 (CTES). Dpto. Goya, Loc. Ruta 120, 25 km E de Goya, 12/03/1976, Schinini 12709 (CTES). Dpto. San Martín, Carlos Pellegrini, 11 km al N arrocera Drews, 30/05/1971, Krapovickas 20298 (CTES).

***Bacopa paraguariensis*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Concepción, Estancia "Buena vista", 20/03/87, Pedersen 14850 (BAB); Dpto. San Miguel, Estancia "Curuzú Laurel", 19/01/93, Schinini 27556 (CTES); 19 km S de Caa Cati, Ruta 5, 14/03/78, Ahumada 1797 (CTES); Dpto. Itatí, 20/10/82, Carnevali 5857 (CTES). Dpto. Ituzaingó, Establecimiento "Santo Domingo", 06/02/13, Keller 11253 (CTES).

***Bacopa rotundifolia*: Argentina:** Chaco. Dpto. 1º de Mayo, Col. Benítez, Schulz 859 (CTES); Corrientes. Dpto. General Paz. Ahumada 2002 (CTES); Dpto. Mburucuyá, Estancia "Santa Teresa", 1954, Pedersen 2597 (CTES); Formosa, Dpto. Bartolomé de las Casas, Schulz 658 (CTES); Salta Forestal, Saravia Toledo

1595 (CTES);

***Bacopa salzmannii*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Capital, 04/04/74, Schinini 8680 (CTES); Dpto. Mburucuyá, camino al Parque Nacional Mburucuyá, 28/10/2021, Sosa & Gómez 302 (CTES) (FAA); Estancia “Santa Teresa”, 18/05/69, Krapovickas 15401 (CTES); Dpto. San Cosme, ruta 12, en límite con Itatí, 28/11/81, Krapovickas 37553 (BAB); Dpto. San Miguel, sobre el arroyo Carambola, 14/03/01, Arbo 8786 (CTES); Dpto. Ituzaingó, Estancia “San Pedro”, 11/11/76, Arbo 1328 (CTES); Dpto. Santo Tomé, Estancia “San Francisco”, 05/12/70, Krapovickas 17253 (CTES).

***Bacopa scabra var. scabra*: Argentina.** Corrientes. Dpto. Concepción, Santa Rosa, 02/11/2021, Sosa & Gómez 304 (CTES) (FAA); Dpto. Mburucuyá, 01/05/72, Krapovickas & Mrogniski 22207 (CTES); Dpto. Corrientes, Laguna Brava, 25/04/95, Schinini 8754 (CTES); 06/04/74, Schinini 8706 (CTES); Dpto. Santo Tomé, Reserva Natural Provincial del Iberá. Laguna Galarza, 25/04/95, Arbo 6563 (CTES);

***Bacopa verticillata*: Argentina.** Corrientes. Dpto. San Miguel: Ea. San Juan Porajhu, ruta 17, 07/12/92, Tressens 4277 (CTES, LIL); Dpto. Mburucuyá, Estancia “Santa Teresa”, 26/12/80, Pedersen 12980 (BAB, CTES). **Paraguay.** Dpto. San Pedro, Primavera, Woolston 1096 (SI, LP, SP).

a. Revisión de bibliografía y de material de herbario

Se buscó información de la temática en la Biblioteca del Instituto de Botánica del Nordeste, en la Biblioteca Electrónica de Ciencia y Técnica y en bases de datos especializadas disponibles en línea.

Se revisó todo el material del género disponible en el Herbario CTES, que cuenta con numerosas colecciones del área de estudio. Con el material del herbario se caracterizó morfológicamente cada una de las especies y se confeccionó una base de datos con los registros de las distintas localidades. También se tomaron notas de las formas de vida, fenología y todos los datos ambientales que registren las etiquetas.

b. Estudios de distribución

El análisis de la distribución de las macrófitas que crecen en el área de estudio se realizó de acuerdo a las Ecorregiones y los Complejos Ecosistémicos de Argentina (Rodríguez *et al.* 2012). Los registros del material de herbario fueron georreferenciados con Google Earth Pro para confeccionar los mapas con el software Q-GIS (2021). A su vez, se tomaron datos de ocurrencia (coordenadas geográficas) a partir de bases de datos como GBIF (Global Biodiversity Information Facility) y Trópicos, utilizando solo material cuya identificación fue corroborada. Se efectuó la georreferenciación de las 8 especies de *Bacopa* que se distribuyen en la provincia de Corrientes. Con los datos se confeccionaron mapas de distribución de las especies en las 5 ecorregiones que se encuentran dentro de los límites de la provincia.

c. Estudios morfo-anatómicos

Se analizaron morfológicamente ejemplares de las 8 especies de *Bacopa* que crecen en el Iberá, disponibles en el herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES) y de otros herbarios de Argentina como BAB, LIL, SI, LP y SP solicitados en préstamo. Las mediciones se realizaron con un microscopio estereoscópico.

Para los estudios anatómicos se seleccionaron 6 especies: *B. axillaris*, *B. congesta*, *B. dubia*, *B. monnieri*, *B. scabra* y *B. salzmännii*, que representan a las bioformas propuestas por Chambers *et. al.* (2007).

El material utilizado fue coleccionado por M. M. Sosa en viajes previos, conservado en FAA (formol: alcohol etílico; ácido acético 5:90:5), además, durante el período octubre-noviembre 2021 se realizaron nuevos viajes de campo al interior de la provincia de Corrientes.

Microscopía óptica (MO): Para el estudio de la anatomía foliar y caulinar se realizaron cortes transversales y paradermales a mano alzada y con micrótopo. Para los cortes con micrótopo, el material fue deshidratado en una serie de deshidratantes histológicos y aclarantes-preimpregnantes de Biopur®, preinfiltración en alcohol butílico terciario e inclusión en parafina (González & Cristóbal, 1997).

La inclusión en parafina, se realizó en cajas de papel encerado, sobre placa caliente a 60° con el fin de lograr trabajar con la parafina fundida. Posteriormente se procedió a tallar cubos de parafina con sus lados paralelos y adherirlos sobre tacos de madera para lograr cortar el material. Los cortes se efectuaron con micrótopo rotativo en espesores entre 8-15 µm. Las tiras de parafina con el material incluido se manejaron con pinceles sobre cartulinas oscuras para una mejor manipulación. Las secciones fueron montadas en portaobjetos con una gota de adhesivo de Haupt, luego se agregó una cantidad suficiente de solución de formol al 3%. Los cortes fueron estirados sobre la zona caliente de la placa (58° C) para la obtención del material extendido.

La coloración se efectuó con Safranina-Astra blue (Luque *et al.* 1996). Todos los preparados fueron montados en bálsamo de Canadá sintético.

Para el análisis de estomas se realizó la diafanización de hojas, siguiendo el método de Dizeo de Strittmatter (1973) y técnica de “peeling” (D’Ambrogio de Argüeso, 1986) para la obtención de epidermis foliar. De cada preparado se seleccionaron al azar tres campos y se cuantificaron las células epidérmicas propiamente dichas y los estomas con el programa ImageJ (González, 2018). Se determinó el índice estomático con la fórmula: $I.E. = \frac{\text{frecuencia de estomas}}{\text{frecuencia de estomas} + \text{frecuencia de células epidérmicas}} \times 100$ de Salisbury (Metcalf & Chalk, 1979). Para el cálculo del índice de porosidad se calculó a partir de la fórmula: $\text{Porosidad} = 100 \times \left(\frac{\text{área de espacios de aire}}{\text{área total del aerénquima}} \right)$ (Jung *et. al.* 2008). Además, se calculó el área que ocupa la médula en los transcortes de tallo a partir de la fórmula:

100*(área ocupada por la médula/área total del tallo).

Microscopio Electrónico de Barrido (MEB): las muestras fijadas en FAA fueron sometidas a una serie creciente de acetona y posteriormente secadas a punto crítico con CO₂. La metalización del material se llevó a cabo a través del baño con oro-paladio. Se utilizó MEB Jeol LV 5800 del Servicio de Microscopía Electrónica de la SGCyT-UNNE, Corrientes.

Las observaciones y fotografías de estructuras vegetativas se realizaron con microscopio estereoscópico Leica CLS, microscopio óptico (MO) Leica DM LV2, con luz polarizada y Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) JEOL 5800 LV de la SGCyT-UNNE, todos provistos con sistema de captura digital de imágenes. Las ilustraciones de estomas se realizaron con tableta digitalizadora en base a fotografías de preparados histológicos.

Las descripciones morfo-anatómicas se realizarán considerando el Atlas of Aquatic and Wetland Plant Stems (Schweingruber *et al.* 2020).

d. Estudios estadísticos

Los datos morfológicos obtenidos se sumaron a una matriz con 22 caracteres: reproductivos y vegetativos, incluyendo variables cuali y cuantitativas de las 8 especies estudiadas (Tabla 1). Las variables cualitativas multiestados, fueron transformadas a “dummy”, doble estado (presencia/ausencia). A partir de esta matriz se obtuvo una matriz de similitud empleando el índice de distancia euclidiana. Las especies fueron consideradas como unidades taxonómicas operativas (OTUs) que se agruparon utilizando el método de pares no ponderados usando medias aritméticas (Unweighted Pair Group method with Arithmetic Mean) [UPGMA] (Di Rienzo *et al.* 2016).

RESULTADOS

Estudios morfológicos

El análisis morfológico de las 8 especies que crecen en el Iberá (Figura 1) permitió la selección de 22 caracteres morfológicos cuali y cuantitativos, de los cuales 9 son vegetativos y 13 reproductivos utilizados para diferenciar a las especies. Los mismos se detallan en la Tabla 1 con sus respectivas codificaciones para el análisis estadístico.

Análisis estadístico: el fenograma resultante del Análisis de Agrupamiento se muestra en la Figura 2. El coeficiente de correlación cofenética fue $r= 0,702$, el análisis de agrupamiento determinó dos grandes grupos que se visualizan en el fenograma, en base a las siguientes características: ambiente (palustre y acuático), porte, altura de la planta, forma de la lámina, ancho de los sépalos, pubescencia de la corola, tipo de fruto, entre otros.

El **grupo 1** comprende a *Bacopa dubia*, *B. monnieri* y *B. salzmännii* que se caracterizan por vivir en ambientes acuáticos, con porte rastrero, de menos de 15 cm de altura, hojas ovadas, sépalo dorsal ancho, corola glabra y fruto cápsula ovoide.

El **grupo 2** comprende dos subgrupos, el **subgrupo A** comprende a *Bacopa verticillata* y *B. rotundifolia* y el **subgrupo B**, reúne a *B. scabra*, *B. paraguayensis* y *B. congesta*. Este grupo se caracteriza por vivir en ambientes acuáticos y palustres, con porte erecto (sobre todo el subgrupo B), de más de 20 cm de altura, con hojas pinnatipartidas (subgrupo A), estrechamente ovadas a anchamente ovadas (subgrupo B), sépalo dorsal angosto, corola pubescente (subgrupo B) y fruto cápsula globosa (subgrupo B).

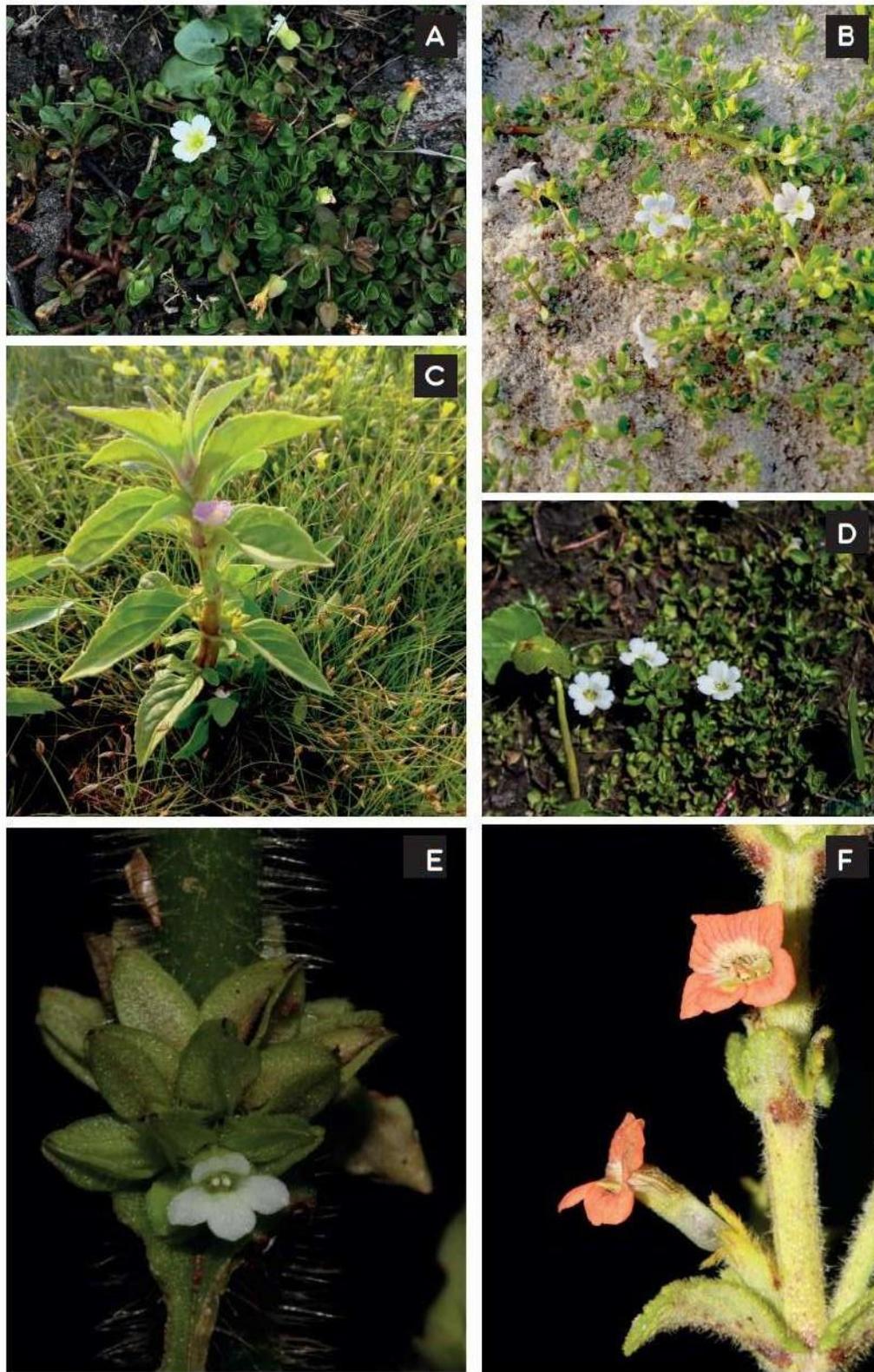
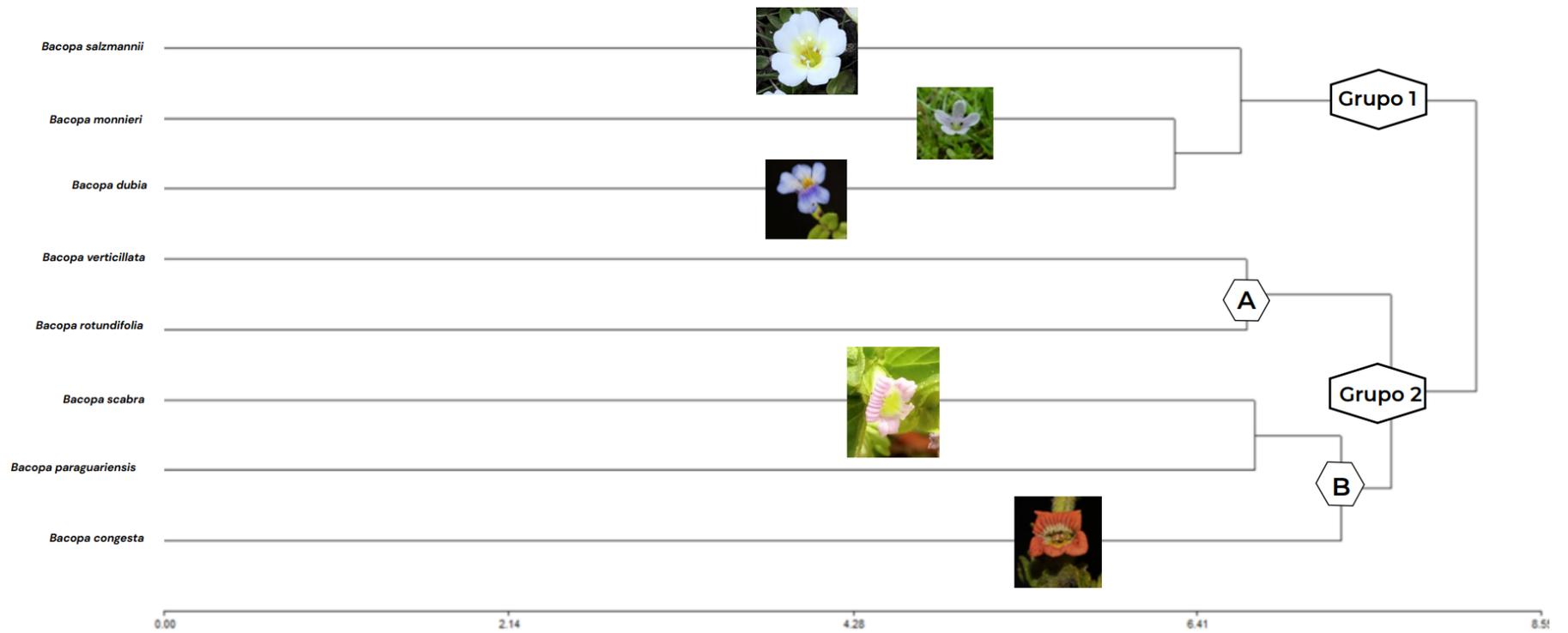


Figura. 1. Aspecto general de las plantas estudiadas anatómicamente. A. *Bacopa dubia*. B. *B. monnieri*. C. *B. scabra*. D. *B. salzmännii*. E. *B. axillaris*. F. *B. congesta*. Fotos E y F: Gentileza J. Florentín & R. Salas.

TABLA 1. Caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos utilizados con su codificación

CARACTERES	CODIFICACIÓN				
Altura de la planta	cm				
Tallo (pubescencia)	0: Glabra	1: Pubérula	2: Estrigosa	3: Escábrida	4: Villosa
Tipo de tallo	0: Prostrado			1: Erecto	
Disposición de las hojas	0: Opuestas			1: Verticiladas	
Lámina	0: Pinnatipartida	1: Estrechamente ovada	2: Ovada	3: Anchamente ovada	
Ápice	0: Agudo			1: Obtuso	
Base	0: Redonda	1: Amplexicaule	2: Auriculada	3: Aguda	4: Atenuada
Margen	0: Entero			1: Aserrado	
Hojas (pubescencia)	0: Glabra	1: Pubérula	2: Estrigosa	3: Escábrida	4: Villosa
Simetría floral	0: Zigomorfa			1: Actinomorfa	
Bractéolas florales	0: Presencia / 1: Ausencia				
Longitud del pedicelo floral (mm)	mm				
Sépalo dorsal largo (mm)	mm				
Sépalo dorsal ancho (mm)	mm				
Sépalo interno largo (mm)	mm				
Cáliz (pubescencia)	0: Glabra			1: Pubescente	
Color de la flor	0: Blancas	1: Azules		2: Naranja	
Longitud de la flor (mm)	mm				
Gineceo (mm)	mm				
Tipo de estilo y estigma	0: Bifurcado	1: Bilobado		2: Capitado	
Corola (pubescencia)	0: Glabra			1: Pubescente	
Fruto	0: Redondeada a globosa			1: Ovoide	

Figura 2. Fenograma resultante del agrupamiento UPGMA de la matriz de distancia ($r= 0,702$) de las especies de *Bacopa* estudiadas



Teniendo en cuenta las diferencias morfológicas se elaboró la siguiente clave que permite la identificación de las especies que crecen en el Macrosistema Iberá:

Clave de especies que crecen en los humedales del Sistema Iberá

- 1. Plantas palustres, de 20 a 50 cm alt. Tallos erectos, flores con bractéolas2
 - 2. Flores dispuestas en inflorescencia terminal, racemosa, corola naranja, rosada o rojas *B. congesta*
 - 2' Flores axilares solitarias o dos por axilas, corola blanca a lilas..... 3
 - 3. Hojas con lámina oblonga o estrechamente ovada, base auriculada, margen entero; bractéola floral 1 mm long... *B. paraguariensis*
 - 3'. Hojas con lámina ovada, base aguda, margen aserrado; bractéola floral 3-4 mm long...*B. scabra* var. *scabra*
- 1'. Plantas acuáticas a palustres, de 9 a 20 cm. alt. Tallos rastreros, flores con o sin bractéolas..... 4
 - 4. Presencia de bractéola floral5
 - 5. Tallo glabro, hojas espatuladas a obovadas *B. monnieri*
 - 5'. Tallo pubérulo, hojas sumergidas con láminas pinnatisectas o pinnatífidas, hojas aéreas con láminas pinnatífidas o enteras *B. verticillata*
 - 4'. Ausencia de bractéola floral 6
 - 6. Estilo entero*B. salzmannii*
 - 6'. Estilo bifido7
 - 7. Cáliz glabro...*B. rotundifolia*
 - 7'. Cáliz con pubescencia ligeramente pubérula.....*B. dubia*

Estudios de distribución

Con los datos se confeccionaron mapas de distribución de las especies en las 5 ecorregiones que se encuentran dentro de los límites de la provincia (Tabla 2, Figura 3).

Las 8 especies presentes en el Macrosistema Iberá también están distribuidas en la ecorregión de Campos y Malezas. *Bacopa salzmannii* es la especie con una distribución más amplia. En Espinal solo se encontraron *B. rotundifolia* y *B. monnieri*.

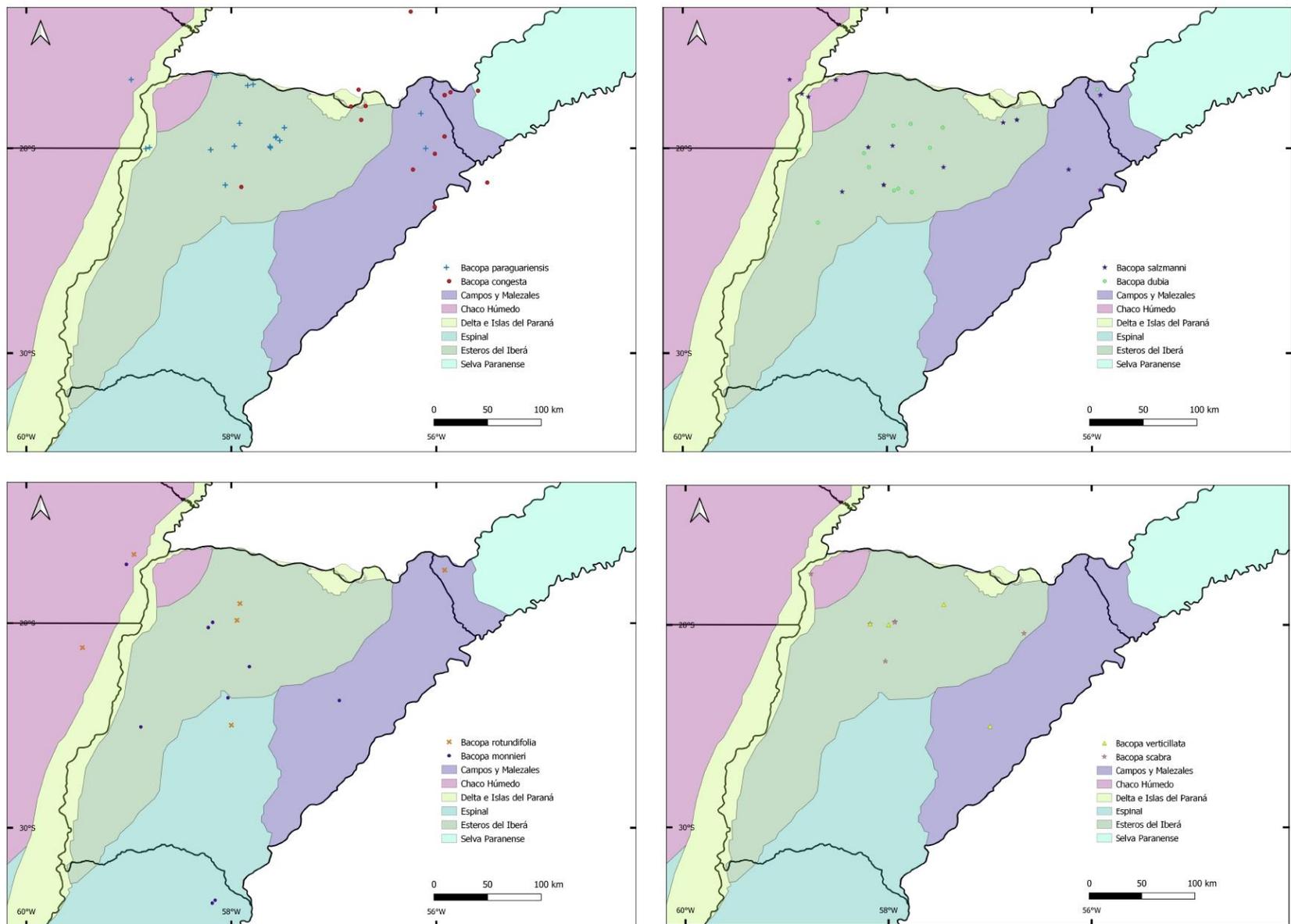


Figura 3. Distribución geográfica de las especies de *Bacopa* presentes en la provincia de Corrientes de acuerdo a las Ecorregiones de Rodríguez *et al.* (2012).

TABLA 2. Distribución de las especies de *Bacopa* en las Ecorregiones y los Complejos Ecosistémicos de Argentina(Rodríguez *et al.* 2012)

Especies	Esteros del Iberá	Campos y Malezales	Chaco Húmedo	Delta e Islas del Paraná	Espinal
<i>Bacopa congesta</i>	X	X		X	
<i>B. dubia</i>	X	X		X	
<i>B. monnieri</i>	X	X	X		X
<i>B. paraguariensis</i>	X	X		X	
<i>B. rotundifolia</i>	X	X	X		X
<i>B. salzmannii</i>	X	X	X	X	
<i>B. scabra</i>	X	X			
<i>B. verticillata</i>	X	X			

Estudios anatómicos

Los caracteres diferenciales foliares de las seis especies de *Bacopa* estudiadas se detallan en la Tabla 3.

HOJA:

1. Epidermis

La cutícula es estriada y delgada (4-7 μm) en todas las especies analizadas. La epidermis es uniestratificada.

a. Células epidérmicas propiamente dichas

Las células en corte transversal son de altura variable (23-170 μm). En vista superficial, las seis especies tienen las células epidérmica propiamente dichas de la cara adaxial con paredes anticlinales rectas a curvas. En la cara abaxial, cinco de las especies estudiadas tienen paredes anticlinales sinuosas, *B. scabra* presenta paredes anticlinales rectas a curvas (Tabla 3).

b. Tricomas

Todas las especies de *Bacopa* analizadas presentan un indumento formado por cuatro tipos de tricomas en ambas caras de la hoja (Tabla 3, Figura 4 A-F).

Tipos de tricomas:

- Tipo I: tricoma eglandular unicelular, con una célula basal, ascendente, con ápice redondeado o agudo y base ensanchada, con cutícula lisa. Este tipo fue observado principalmente en la cara adaxial de las hojas de *B. axillaris*, *B. congesta*, *B. dubia*, *B. salzmännii* y *B. scabra* (Figura 4 A, B).
- Tipo II: tricoma eglandular pluricelular (2-6 células); uniseriados, con una a dos células basales que suelen ser más grandes que las células epidérmicas adyacentes. Presente en *B. axillaris*, *B. congesta*, *B. dubia* y *B. salzmännii*, mayormente distribuidos alrededor de la vena media en la cara abaxial de las hojas (Figura 4 C, D).
- Tipo III: tricoma glandular hundido, el pedúnculo se ubica en una depresión de la epidermis, está formado por una sola célula de forma obcónica que soporta la cabezuela. La cabezuela es globosa, uni- a tetracelular. Las células epidérmicas propiamente dichas se disponen radialmente alrededor del pedúnculo. Se encuentran en las seis especies estudiadas tanto en la cara adaxial como en la cara abaxial de la lámina (Figura 4 E, F).
- Tipo IV: tricoma glandular a nivel de la epidermis. Posee las mismas características anatómicas que los de Tipo III, pero se destacan por no encontrarse en depresiones de la superficie. Se encuentran en *B. congesta*, *B. scabra* y *B. salzmännii*, tanto en la cara adaxial como en la cara abaxial de la lámina (Figura 4 G, H).

TABLA 3. Caracteres diferenciales de la anatomía de las hojas de las especies de *Bacopa* estudiadas

	EPIDERMIS FOLIAR		TRICOMAS		ESTOMAS			MESÓFILO	
	I (paredes radiales)	Tipo	Posición	Tipo	Nivel	Índice estomático (%)		Mesófilo	Estratos (parénquima empalizada)
						Superficie adaxial	Superficie abaxial		
<i>B. axillaris</i>	Ω	I, II y III	A	Anisocítico (E); Anomocítico (E) (I)	n	4,64	18,5	D	1
<i>B. congesta</i>	Ω	I, II y IV	H	Tetracítico (I)	v	0	17,14	D	2 a 3
<i>B. dubia</i>	Ω	II y III	A	Anomocítico (E) (I)	n	13,04	13,63	D	1
<i>B. monnieri</i>	Ω	III	A	Anomocítico (E) (I)	n	17,24	18,75	H	0
<i>B. salzmannii</i>	Ω	I, II, III y IV	A	Anomocítico (E) (I)	n	12,5	17,21	D	1
<i>B. scabra</i>	=/~	I, III y IV	A	Tetracítico (E) (I)	n	5,05	13,79	D	2

Abreviaturas: **Epidermis foliar:** E: epidermis adaxial, I: abaxial, =: paredes rectas, ~: paredes curvas, Ω: paredes onduladas en forma de letra omega;

Estomas: A: anfiestomática, H: hipoestomática; **Nivel de los estomas:** v: elevados, n: a nivel; **Mesófilo:** D: dorsiventral, el número indica el número de estratos, H: homogéneo

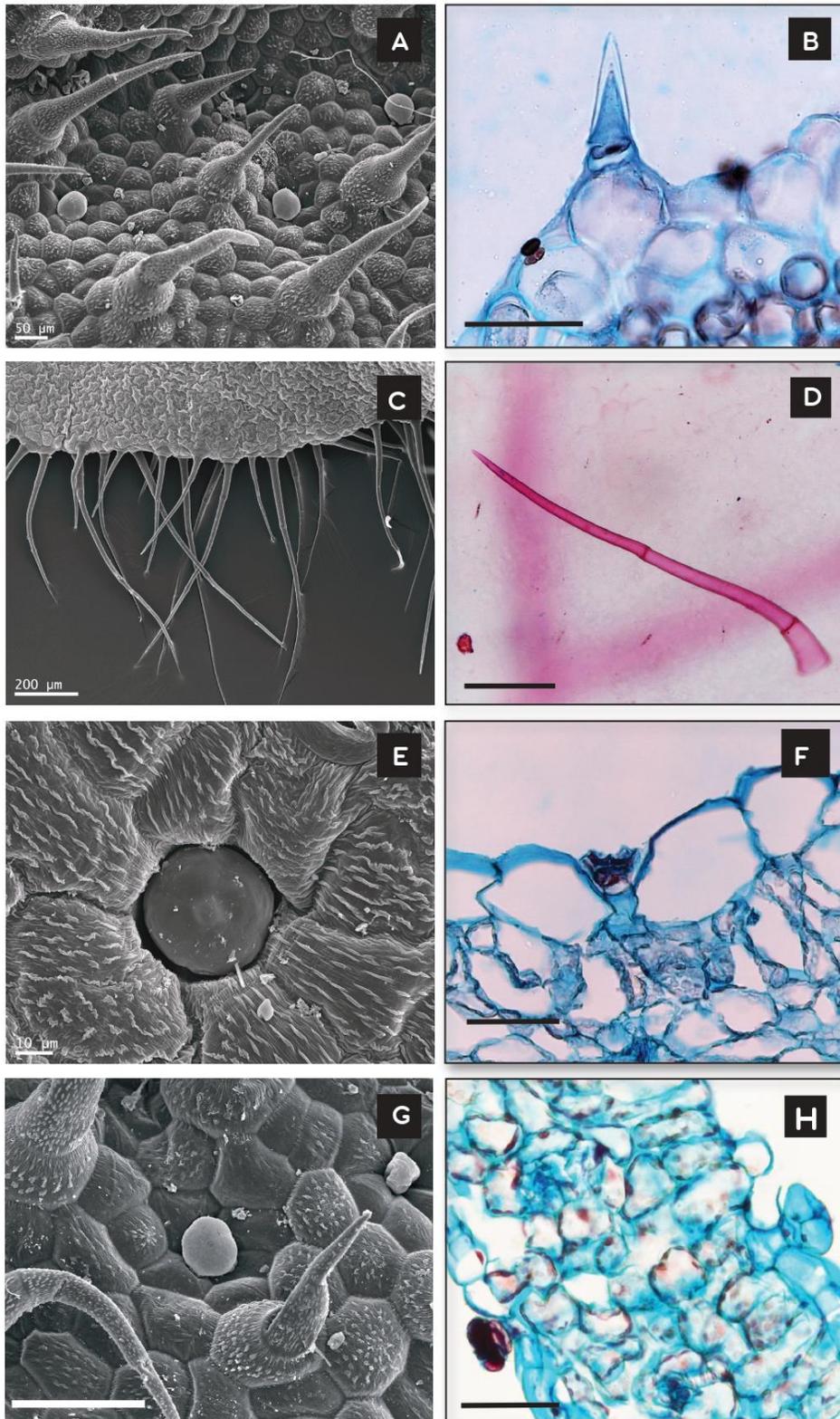


Figura 4. Microfotografías de tricomas en hoja de las especies de *Bacopa* (MEB, MO). A. Tricomas I y IV de *B. congesta*. **B.** Tricoma I de *B. scabra*. **C y D.** Tricoma II de *B. salzmannii*. **E.** Tricoma III de *B. monnieri*. **F.** Tricoma II de *B. axillaris*. **G.** Tricoma I de *B. congesta*. **H.** Tricoma IV de *B. scabra*. Escalas: B, D, F, H: 50 μm ; G: 100 μm .

c. Mesófilo

El mesófilo es dorsiventral en cinco especies estudiadas, sólo en *B. monnieri* es homogéneo con células redondeadas. Las especies con mesófilo dorsiventral, presentan 1 capa de células del parénquima clorofiliano en empalizada en *B. axillaris*, *B. dubia* y *B. salzmannii* (Figura 5 A, B, C); y 2-3 capas en *B. scabra* y *B. congesta* (Figura 5 E, F). El parénquima lagunoso se dispone hacia la cara abaxial y sus células son redondeadas y dejan espacios intercelulares entre sí. En *B. monnieri* hay de 6 a 9 capas de células redondeadas de parénquima lagunoso (Figura 5 D). El parénquima clorofiliano de *B. congesta*, *B. dubia* y *B. salzmannii* tiene drusas distribuidas a lo largo de la lámina.

La vena media de la lámina está conformada por un haz vascular colateral cerrado con paquetes de fibras por fuera del xilema y del floema, además cuenta con una vaina fascicular rodeando al haz formada por células parenquimáticas con pocos cloroplastos. La zona de la vena media es prominente hacia el envés en *B. axillaris*, *B. congesta*, *B. salzmannii* y *B. scabra*. Las venas laterales de menor tamaño también poseen una vaina fascicular y fibras acompañando a los tejidos vasculares (Figura 5).

d. Estomas

La lámina es anfiestomática en todas las especies analizadas excepto en *B. congesta*, que cuenta con una lámina hipoestomática. Los estomas son anomocíticos en *B. dubia*, *B. monnieri* y *B. salzmannii* (Figura 6 A, B) y *B. axillaris* tiene estomas anomocíticos en la cara abaxial y estomas anisocíticos en la cara adaxial, los últimos sobre todo restringidos a los márgenes de la hoja (Figura 6 C). Los estomas son tetracíticos en *B. scabra* y *B. congesta* (Fig. 6 D).

Las especies estudiadas a su vez presentan un cuarto tipo de estomas de tipo paracítico en los tallos de tres especies, *B. scabra*, *B. monnieri* y *B. congesta* (Figura 6 E, F).

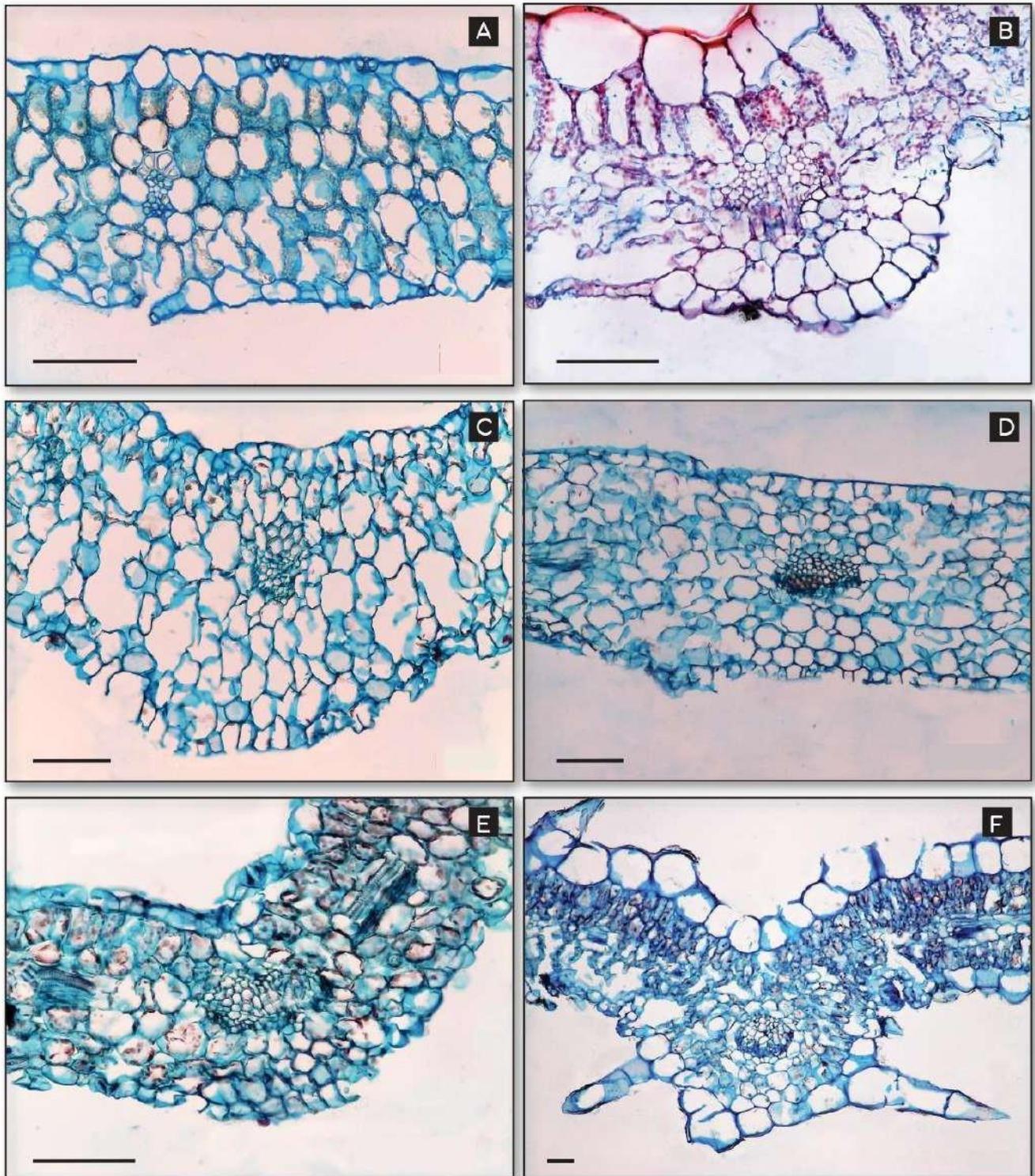


Figura 5. Microfotografías de transcortes de hoja de las especies de *Bacopa* (MO). A. *Bacopa dubia*, mesófilo dorsiventral. B . *B. axillaris*, mesófilo dorsiventral. C. *B. salzmannii*, mesófilo dorsiventral. D. *B. monnieri*, mesófilo homogéneo. E. *B. scabra*, mesófilo dorsiventral. F. *B. congesta*, mesófilo dorsiventral. Escala: A-F: 100 μ m.

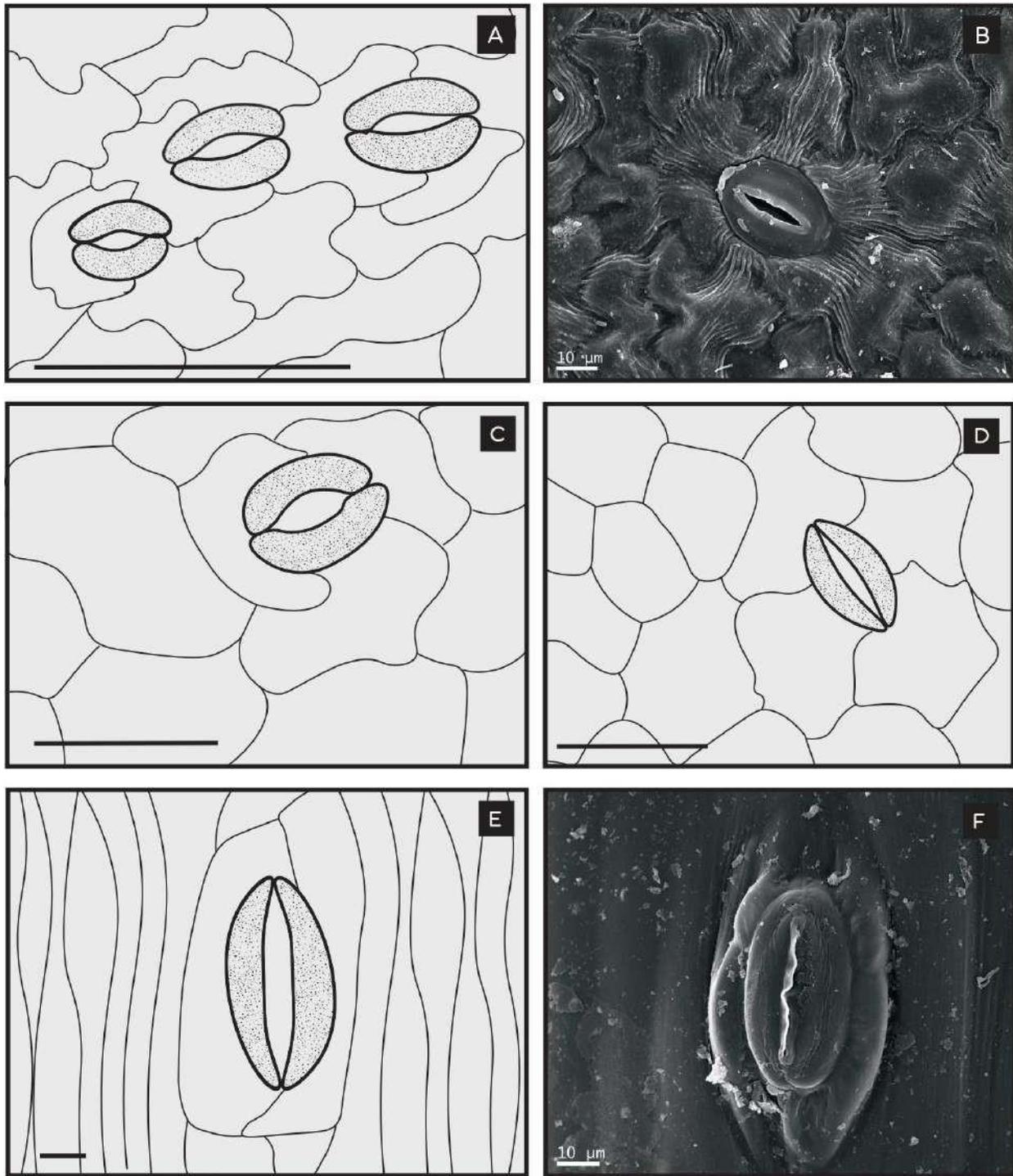


Figura 6. Ilustraciones y microfotografías de MEB de estomas en hojas y tallos de *Bacopa*. A. Estomas anomocíticos en hoja de *B. axillaris*. B. Estoma anomocítico en hoja de *B. monnieri*. C. Estomas anisocítico en hoja de *B. axillaris*. D. Estoma tetracítico en hoja de *B. scabra*. E. Estoma paracítico de tallo de *B. scabra*. F. Estoma paracítico en tallo de *B. congesta*. Escalas: A: 100 μm ; C,D: 50 μm ; E: 10 μm .

TALLO:

Las especies de *Bacopa* presentan diferencias en el tallo (Tabla 4). El tallo es de sección circular a cuadrangular; en *B. axillaris*, *B. dubia* y *B. salzmannii* la sección es circular (Figura 7 A, B, C), *B. monnieri* presenta un tallo levemente cuadrangular (Figura 7 D). En *B. congesta* y *B. scabra* la sección es cuadrangular con la presencia de costillas y de colénquima en las costillas (Figura 7 E, F; 8 A).

a. Epidermis

Es uniestratificada con una delgada cutícula estriada en todas las especies estudiadas. Se observan los mismos cuatro tipos tricomas descritos para las hojas, los tipos de tricomas y su distribución en cada especie se detalla en la Tabla 4.

Bacopa congesta, *B. monnieri* y *B. scabra* tienen estomas del tipo paracítico (Figura 6 E, F).

El córtex tiene aerénquima formado por grandes espacios intercelulares que varían de tamaño según la especie; los espacios intercelulares más grandes se encuentran en *B. dubia*, *B. salzmannii* y *B. axillaris* (Figura 7 A, B, C); *B. monnieri*, *B. scabra* y *B. congesta* presentan espacios intercelulares de menor tamaño (Figura 7 D, E, F). Las células del aerénquima son circulares a poligonales, las que rodean a los espacios intercelulares grandes son alargadas. El aerénquima de los tallos se clasificaron en dos categorías según los tipos propuestos por Jung *et al.* (2008): “esquizogenia de panal” con espacios de aire de tamaño irregular, “esquizogenia en forma de rueda”, el cual tiene forma de rueda con amplios espacios de aire de tamaño regular que son circulares o poligonales. En *B. dubia*, *B. salzmannii* y *B. monnieri* se observa una capa de endodermis rodeando al cilindro vascular. A su vez, *B. dubia* presenta parénquima reservante con granos de almidón rodeando la endodermis (Figura 8 B).

Los tejidos de conducción en todas las especies analizadas forman un cilindro continuo con xilema por dentro y floema por fuera, con casquetes de fibras perifloemáticas (Figura 8 C).

Las células de la médula son parenquimáticas de contorno circular a poligonal. El espacio ocupado por la médula varía según la especie, puede ser de gran tamaño, de tamaño medio o pequeño (expresadas en relación de porcentaje en Tabla 4). En *B. scabra* y *B. congesta* las células de la médula dejan espacios intercelulares.

Las células parenquimáticas corticales y medulares de la mayoría de las especies presentan drusas, excepto *B. monnieri* (Figura 8 D).

TABLA 4. Caracteres anatómicos diferenciales del tallo de las especies de *Bacopa* estudiadas

	Contorno	Estomas	Tricomas	Aerénquima cortical (Índice de porosidad)	Patrón de aerénquima (Jung <i>et al.</i> 2008)	Médula (% de médula en transcorte)
<i>B. axillaris</i>	Circular	Ausente	Tipo II y III	61,58%	Esquizogenia en forma de rueda	22,19%
<i>B. congesta</i>	Cuadrangular	Paracítico	Tipo I, II y IV	11,22%	Esquizogenia de panal	58,27%
<i>B. dubia</i>	Circular	Ausente	Tipo II y III	24,10%	Esquizogenia en forma de rueda	2,68%
<i>B. monnieri</i>	Subcuadrangular	Paracítico	Tipo III	23,49%	Esquizogenia de panal	2,02%
<i>B. salzmannii</i>	Circular	Ausente	Tipo II y IV	55,67%	Esquizogenia en forma de rueda	1,51%
<i>B. scabra</i>	Cuadrangular	Paracítico	Tipo III	33,20%	Esquizogenia de panal	16,40%

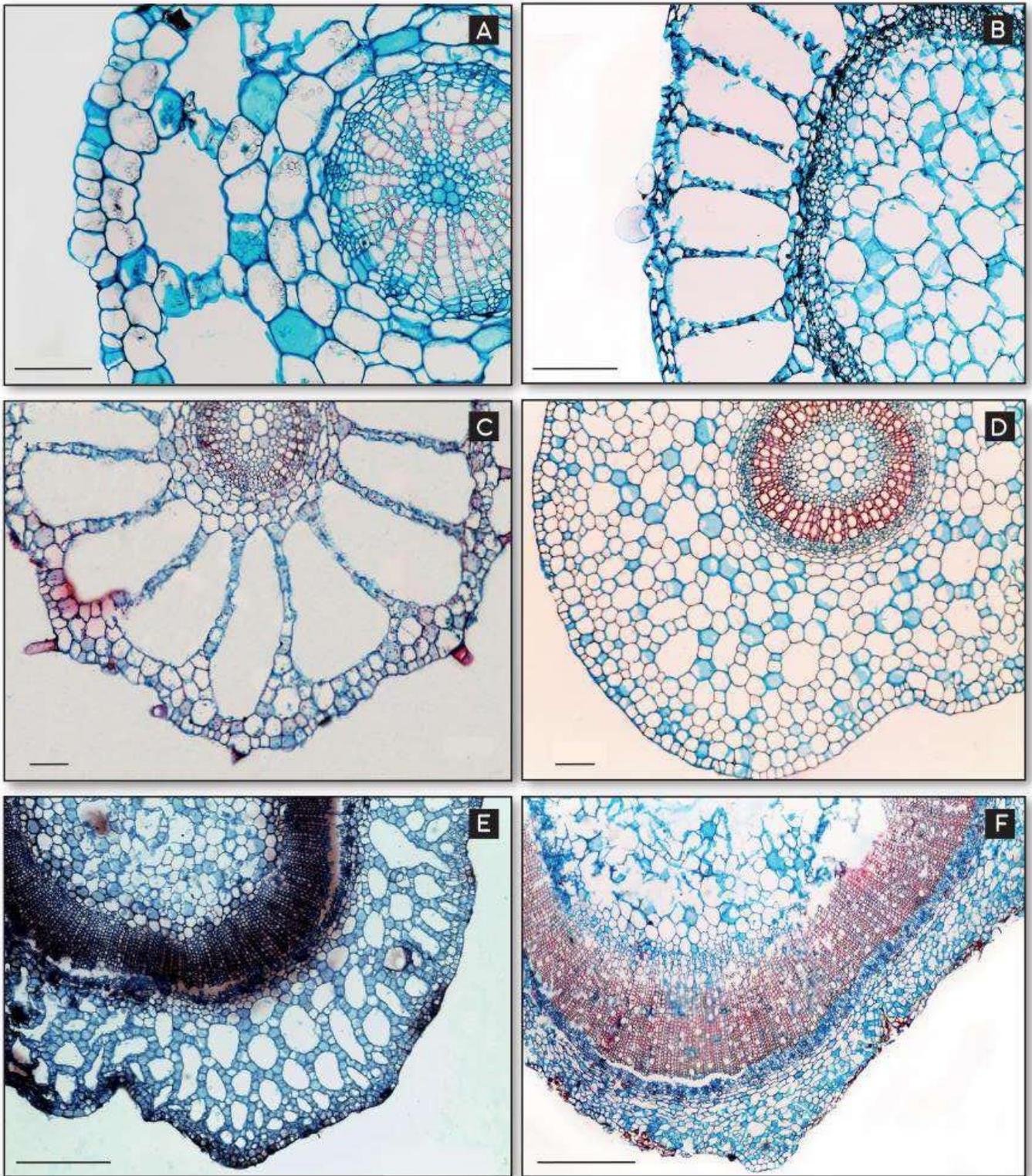


Figura 7. Microfotografías de transcortes de tallo de las especies de *Bacopa* (MO). A-C. Esquizogenia en forma de rueda. A. *Bacopa dubia*. B. *B. axillaris*. C. *B. salzmännii*. D-F. Esquizogenia de panal. D. *B. monnieri*. E. *B. scabra*. F. *B. congesta*. Escala: A, C-D: 100 μ m; B: 200 μ m; E-F: 500 μ m.

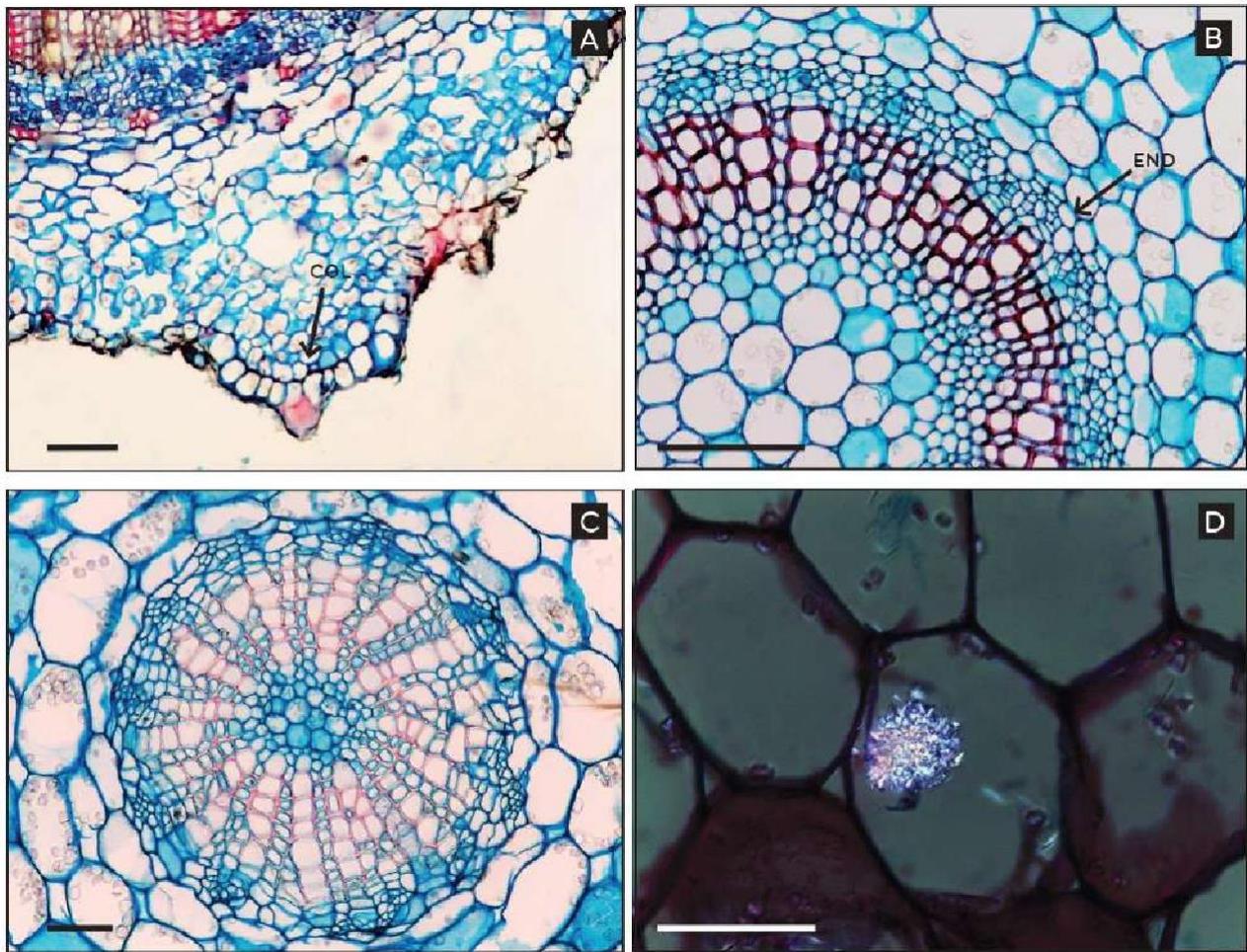


Figura 8. Microfotografías de detalles de transcortes de tallo (MO). A. Costillas con colénquima en *B. congesta*. B. Capa de células endodérmicas en *B. monnieri*. C. Tejidos de conducción en *B. dubia*. D. Drusas medulares en *B. congesta* con luz polarizada. Escala: A-B: 100 μm ; C-D: 50 μm . col: colénquima; end: endodermis.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Bacopa ha sido un género con un tratamiento taxonómico complicado, debido a que la variación morfológica de las especies que incluye ha hecho que varios géneros pasaran a sinonimia de *Bacopa* (Souza & Giulletti 2009; Sosa *et al.* 2018). Con respecto a ello, los estudios morfológicos realizados en este trabajo, permitieron la elaboración de una clave dicotómica de caracteres de fácil observación de las ocho especies de *Bacopa* presentes en el Macrosistema Iberá basándonos en los análisis estadísticos morfológicos de estructuras vegetativas y reproductivas, que determinaron la formación de dos grandes grupos. El grupo 1 que involucra a especies consideradas acuáticas con hábito rastrero formado por *B. monnieri*, *B. dubia* y *B. salzmannii*, y el grupo 2, constituido a su vez por un subgrupo A y B, con especies consideradas principalmente palustres de porte erecto. En relación a esto, el trabajo de filogenia molecular más reciente (Scatigna *et al.* 2022), ha corroborado la no monofilia del género *Bacopa*, en cuyo árbol se observó la separación de *B. monnieri*, de las otras especies como *B. rotundifolia* y *B. salzmannii*.

En relación a la distribución de las especies, en la Ecorregión Esteros del Iberá definida por Rodríguez *et al.* (2012) se distribuyen las 8 especies. Neiff (2004) considera a los Esteros del Iberá como una de las principales fuentes superficiales de agua limpia en la Argentina, comprendiendo un conjunto de ecosistemas relacionados funcionalmente, donde predominan los ambientes palustres (esteros y bañados), razón por la cual se encuentran estas especies macrófitas. En la ecorregión de Campos y Malezas también se hallan presentes las 8 especies de *Bacopa*, aunque en menor proporción, esto es porque la ecorregión varía en su cobertura vegetal de las demás, contando con vastos pastizales y pajonales de llanura, apenas interrumpidos por pequeños parches boscosos. El clima es subtropical húmedo, coincidente en ambas ecorregiones, con índices de humedad relativa también siempre elevados, y con lluvias siempre uniformes, con precipitaciones que varían entre los 1500 y los 1800 mm anuales, condiciones que favorecen el crecimiento de estas plantas. En la ecorregión de Deltas e Islas del Paraná se han encontrado 4 especies de *Bacopa*, con clima templado y húmedo y con una presencia de cuerpos de agua permanentes, la vegetación nativa puede ir desde bosques fluviales dominadas por especies arbóreas, a bosques de albardón y pastizales altos (Neiff, 2005).

Por otro lado, se realiza por primera vez un análisis anatómico comparativo en seis especies de *Bacopa*, cinco de las cuales se encuentran presentes en el Macrosistema Iberá. Los resultados de este estudio permitieron definir a las especies de las plantas presentes en el Sistema Iberá, analizadas morfo-anatómicamente como especies acuáticas emergentes según la clasificación propuesta por Chambers *et al.* (2007).

Las diferencias anatómicas de los caracteres foliares en las seis especies de *Bacopa* analizadas, fueron observados en el indumento, los tipos de estomas y su disposición, los tipos de mesófilo y los patrones de aerénquima. Los caracteres epidérmicos como tipos de tricomas y de estomas resultaron ser útiles para

diferenciar a las especies de *Bacopa*. La mayoría de los caracteres descriptos coinciden con resultados encontrados en las descripciones anatómicas de la hoja de *B. monnieri* y *B. myriophylloides*, que presentan epidermis uniestratificada, células epidérmicas con paredes anticlinales rectas a sinuosas, cutícula estriada (Bona & Morretes, 1999, Semchechem, 2004, Sudhakaran, 2020).

Los tricomas presentes en la epidermis pueden ser eglandulares y glandulares, estos últimos son una característica común en la familia (Metcalf & Chalk, 1979). En ese sentido, la utilidad taxonómica de los caracteres epidérmicos en otro género, como *Veronica* L., fueron caracteres diagnósticos útiles para la identificación de especies (Dheyab *et al.* 2022). En *B. monnieri* solamente se presentan tricomas glandulares, en concordancia con lo descripto por Sudhakaran (2020), a diferencia de las restantes especies estudiadas, donde la gran mayoría tienen los otros tipos de tricomas, similares a los descriptos para *B. myriophylloides*, tricomas eglandulares pluricelulares, uniseriados y tricomas glandulares con pedúnculo corto y cabeza unicelular o pluricelular. Es usual asignar roles protectores a los tricomas tipo I y II, puede servir de protección contra la transpiración, o en este caso se puede hablar de protección contra el daño por la radiación o ante posibles patógenos (Tattini *et al.* 2000; Werker, 2000). En cuanto a la presencia de tricomas glandulares o no glandulares en las especies de *Bacopa* aún requieren de un estudio más profundo que involucren las interacciones de las plantas con posibles agentes externos como los hongos o insectos.

En cuanto a los estomas, se dan a conocer cuatro tipos: anomocíticos, anisocíticos, tetracíticos y paracíticos, que permiten diferenciar a las especies. Los tipos anisocíticos y anomocíticos fueron descriptos para *B. monnieri* y *B. myriophylloides* anteriormente (Semchechem, 2004, Sudhakaran, 2020), sin embargo en este trabajo se describe por primera vez en el género estomas de tipo paracítico en los tallos de *B. congesta* y *B. scabra*. La gran diversidad en los tipos de estomas ya fue determinada en el género *Callitriche* (Plantaginaceae) por Doll *et al.* (2021a) quienes la correlacionan con su diversidad ecológica. En ese sentido, estos autores, observaron que mientras las células precursoras de los estomas de las especies terrestres se dividen varias veces antes de diferenciarse en estomas, en las especies palustres la diferenciación de los estomas se realiza directamente. Estos hallazgos destacan la importancia adaptativa de la diversidad en la división de los meristemoides y a su vez estudian los mecanismos moleculares detrás de la evolución de los diferentes modos de distribución estomática. Además, encontraron que las especies del género *Callitriche* al cumplir con los tres modos de distribución estomática, son un modelo deseable para los análisis comparativos y la biología evolutiva del desarrollo de los estomas (Doll *et al.* 2021b). En las especies de *Bacopa* estudiadas se observaron dos modos de distribución estomática, la gran mayoría de ellas tienen hojas anfiestomáticas, excepto *B. congesta* que presenta lámina hipostomática. De acuerdo a ello, el modo anfiestomático que se observa en las herbáceas anuales de rápido crecimiento, mejora la capacidad de intercambio de gases hoja-atmósfera, sin embargo también favorece la evapotranspiración, sobre todo en los estomas orientados hacia arriba (Drake *et al.* 2019). En las especies estudiadas se observó un índice estomático bajo en la cara adaxial, considerando que las hojas utilizan como recurso beneficioso para reducir la pérdida de agua. En cambio, *B. congesta*, que tiene hojas hipostomáticas podrían reducir la transpiración (Schymanski *et al.* 2017) y, aumentar ligeramente la eficiencia fotosintética en el lado de la hoja

expuesto al sol ligeramente más cálido.

Se describe por primera vez la estructura del mesófilo heterogéneo dorsiventral con parénquima en empalizada y lagunoso, en 5 especies de *Bacopa* estudiadas, la única especie con parénquima homogéneo es *B. monnieri*, coincidente con la descripción de Sudhakaran (2020). Se destaca que el parénquima homogéneo tiene espacios de aire, en concordancia con las especies de hábito palustre (González, 2002).

En cuanto a la anatomía del tallo, se observaron diferencias en el contorno, presencia o ausencia de estomas, los tipos de aerénquima cortical, la distribución de los espacios de aire en la médula y la presencia de endodermis y colénquima. La mayoría de las especies tienen contorno circular, en cambio en *B. scabra* y *B. congesta*, con hábitos palustres, el contorno es cuadrangular y presentan colénquima en las costillas. En *Stemodia hassleriana* Chodat, especie emparentada filogenéticamente con *Bacopa*, se encontró colénquima angular en las costillas, característica que se corresponde con el ambiente donde crecen (Sosa, 2008), al igual que el contorno cuadrangular descrito en *Stemodia hyptoides* Cham. & Schltdl. (Sosa, 2005), especie también de hábito palustre.

Se destaca la presencia de una capa de endodermis en *B. dubia*, *B. monnieri* y en *B. salzmännii*, carácter descrito anteriormente para *B. monnieri* donde se menciona la presencia de un periciclo de 1 o 2 dos capas en el tallo, carácter que tiende a ser común en las raíces de las plantas, pero en los tallos no es habitual (Varshney, 2017). En ese sentido, Wu *et al.* (2022) investigaron las características anatómicas e histoquímicas que permitían que *Plantago fengdouensis* (Z.E. Zhao & Y. Wang) Y. Wang & Z.Y. Li (Plantaginaceae) tolere tanto ambientes sumergidos como ambientes terrestres, determinaron que tanto la endodermis en los tallos, como los espacios de aire en los brotes y una capa de esclerénquima pueden reflejar adaptaciones que permiten que las especies prosperen en zonas ribereñas.

Además, se observaron diferencias en cuanto a los tipos de aerénquima de las seis especies. No siempre es posible utilizar la presencia o ausencia de aerénquima para distinguir las especies acuáticas de aquellas plantas terrestres y de humedales, ya que los límites adaptativos entre los tipos de plantas usualmente no están claros (Jackson y Armstrong, 1999). Sin embargo, los tallos de *Bacopa* se clasificaron en dos categorías según los tipos de aerénquima propuestos por Jung *et al.* (2008): *Bacopa monnieri*, *B. scabra* y *B. congesta* presentan un aerénquima denominado “esquizogenia de panal”, a su vez estas tres son las especies que cuentan con estomas paracíticos en el tallo. Por otro lado, *B. dubia*, *B. salzmännii* y *B. axillaris* presentan un aerénquima de “esquizogenia en forma de rueda”, el cual se caracterizan por la presencia de lagunas dispuestas radialmente en la corteza, de tamaño regular circular o poligonal, separadas entre sí por septos uniseriados. Este tipo de aerénquima está relacionado con el ambiente donde viven, ya que estas especies ocasionalmente soportan periodos de inundación.

En conclusión, este trabajo permitió el aporte de una clave dicotómica con caracteres morfológicos, nuevos caracteres anatómicos vegetativos de las especies de *Bacopa* que crecen en humedales, los cuales pueden ser útiles para optimizar tareas en el manejo y el tratamiento de las macrófitas, sobre todo aquellas que son utilizadas con fines ornamentales o como indicadores ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahire M.L., Laxmi S., Walunj P.R. 2014.** Effect of potassium chloride and calcium chloride induced stress on in vitro cultures of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell and accumulation of medicinally important bacoside A. J. Plant Biochem. Biotechnol. 23: 366–378.
- Arbo M.M. & S.G. Tressens. 2002.** Flora del Ibero. EUDENE, Corrientes. 613 p
- Baruah P., Saikia R.R., Baruah P.P. & S. Dek. 2014.** Effect of crude oil contamination on the chlorophyll content and morpho-anatomy of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. Environ. Sci. Pollut. Res. 21: 12530-12538.
- Bona C., & Morretes B.L.D. 1999.** Adaptações morfo-anatômicas dos órgãos vegetativos de *Bacopa salzmanii* (Benth.) Wettst. ex Edwall e *Bacopa monnierioides* (Cham.) Robinson (Scrophulariaceae) em ambiente terrestre e aquático.
- Bona C. & B.L. Morretes. 2003.** Anatomia das razes de *Bacopa salzmanii* (Benth.) Wettst. Ex Edwall e *Bacopa monnierioides* (Cham.) Robinson (Scrophulariaceae) em ambientes aquático e Terrestre. Acta Bot. Bras. 17(1): 155-170
- Chambers P.A., Lacoul P., Murphy, K.J. & S.M. Thomaz. 2007.** Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. Hydrobiologia 595(1): 9–26.
- Dalla-Vecchia A., Villa P., Bolpagni R. 2020.** Functional traits in macrophyte studies: Current trends and future research agenda. Aquatic Botany 167: 103290.
- Dhanasekaran M., Tharakan B., Holcomb L.A., Hitt A.R., Young K.A. & B.V. Manyam. 2007.** Neuroprotective mechanisms of ayurvedic antidementia botanical *Bacopa monniera*. Phytotherapy 21(10): 965-969.
- Dheyab, Sinan & Hasan, Muazaz & Al-Hadeethi, Muazaz. 2022.** Study on Epidermis Features of Some Iraqi *Veronica* L. species (Plantaginaceae). Indian Journal of Ecology. 49. 457-464.
- Dizeo de Strittmater C. 1973.** Nueva técnica de diafanización. Bol. Soc. Argent. Bot. 15: 126-129.
- Di Rienzo J.D., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada, M. & C.W. Robledo. 2016.** InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Doll Y, Koga H, & H. Tsukaya. 2021a.** The diversity of stomatal development regulation in *Callitriche* is related to the intrageneric diversity in lifestyles. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 118: e2026351118
- 2021b.** *Callitriche* as a potential model system for evolutionary studies on the dorsiventral distribution of stomata. Plant Signaling & Behavior, 16(11), 1978201.

- Drake, P.L., De Boer, H.J., Schymanski, S.J., & Veneklaas, E.J. 2019.** Two sides to every leaf: water and CO₂ transport in hypostomatous and amphistomatous leaves. *New Phytologist*, 222(3), 1179- 1187.
- Eriksson, P.G. 2001.** Interaction effects of flow velocity and oxygen metabolism on nitrification and denitrification in biofilms on submersed macrophytes. *Biogeochemistry*, 55(1), 29-44.
- González A.M. 2018.** ImageJ: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico. *FOLIUM, relatos botánicos* 1:6-17
- Gonzalez, A.M. 2002.** Anatomía del vástago en especies selectas de plantas hidrófilas. *Flora del Iberá. EUDENE, Corrientes, Argentina*, 431-450.
- González A.M. & C.L. Cristóbal. 1997.** Anatomía y ontogenia de *Helicteres lhostzkyana* (Sterculiaceae). *Bonplandia* 9: 287-294.
- Guittonny-Philippe A., Petit M. E., Masotti V., Monnier Y., Malleret L., Coulomb B. & I. Laffont-Schwob. 2015.** Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminantmixtures. *J. Environm. Managem.* 147: 108-123.
- Jackson M.B. & W. Armstrong. 1999.** Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biol* 1: 274-287.
- Jung J., Lee S.C. & Choi H.K. 2008.** Anatomical patterns of aerenchyma in aquatic and wetland plants. *J. Plant Biol.* 51, 428–439.
- Khandare R.V., Kabra A.N., Kurade M.B., & S.P. Govindwar. 2011.** Phytoremediation potential of *Portulaca grandiflora* Hook. (Moss-Rose) in degrading a sulfonated diazo reactive dye Navy Blue HE2R (Reactive Blue 172). *Bioresource Technology* 102(12), 6774–6777.
- Lacoul P., & Freedman B. 2006.** Relationships between aquatic plants and environmental factors along a steep Himalayan altitudinal gradient. *Aquatic Botany* 84(1), 3-16.
- Lee M.O., Hwang J.H., Lee D.H., Hong C.B. 2007.** Gene expression profile for *Nicotiana tabacum* in the early phase of flooding stress. *J Plant Biol* 50: 496–503
- Lersten N.R. & J.L. Gunning. 1975.** "Development of Air Passages, and Crystal Distribution, in the Stem of *Bacopa caroliniana* (Scrophulariaceae)." *Proceedings of the Iowa Academy of Science* 82(2):109-112.
- Luque R. De Sousa H. & J.E. Kraus. 1996.** Métodos de coloração de Roeser (1972)- modificado- e Kropp(1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcão 8GS ou 8GX. *Acta Bot. Bras.* 10: 199- 212.
- Metcalfe C.R., & Chalk L. 1979.** Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. *Anatomy of the dicotyledons.* Ed. 2.
- Napaldet J.T., Buot J.R., Zafaralla M.T., Lit J.R. & R.C. Sotto. 2019.** Effect of phytoremediation on themorpho-anatomical characters of some aquatic macrophytes. *Biodiversitas* 20: 1289-1302.
- Neiff, J.J. 2004.** El Iberá...¿en peligro? Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires.
- Neiff, J.J. 2005.** Bosques fluviales de la cuenca del Paraná. *Ecología y manejo de los bosques de Argentina.* 1-26.

- Nugraha I., Yunita R., E.G. Lestari & I. Ardi. 2017.** Pembentukan mother plant *Bacopa australis* secara in-vitro dan aklimatisasi dalam aquascape air tawar. *Media Akuakultur*, 12: 85-94.
- Olaranont Y., Stewart A.B. & P. Traiperm. 2020.** Effects of crude oil on plant growth and leaf anatomical structures in a common coastal plant. *Int. J. Phytoremed.* 1-9.
- Polvi L.E., & Sarneel J.M. 2018.** Ecosystem engineers in rivers: an introduction to how and where organisms create positive biogeomorphic feedbacks. *WIREs Water* 5: 1–10, e1271.
- Pott V.J. & A. Pott. 1997.** Checklist das macrófitas aquáticas do Pantanal, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 11(2):215-227.
- Pott V.J. & A. Pott. 2000.** Plantas aquáticas do Pantanal. Embrapa Comunicação, Brasília, 404 pp.
- Pott V.J., Bueno N.C., Pereira R.A., Salis S.M.D. & N.L. Vieira. 1989.** Distribuição de macrófitas aquáticas numa lagoa na fazenda Nhumirim, Nhecolândia, Pantanal, MS. *Acta Bot. Bras.* 3(2): 153-168.
- Pott V.J., Pott A., Lima L.C.P., Moreira S.N. & A.K.M. Oliveira. 2011.** Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin. *Braz. J. Biol.* 71(1 supp.): 255-263.
- QGIS.org. 2021.** QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- Rodriguez A., Morello J. y S. Matteucci. 2012.** Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Buenos Aires, Argentina: Orientación Gráfica Editora.
- Russo A. & F. Borrelli. 2005.** *Bacopa monniera*, a reputed nootropic plant: an overview. *Phytomedicine* 12(4): 305-317.
- Sabino J.H.F., Araújo, E.S., Cotarelli V.M., Siqueira-Filho J.A. & M.J.A. Campelo. 2015.** Riqueza, composição florística, estrutura e formas biológicas de macrófitas aquáticas em reservatórios do semiárido nordestino, Brasil. *Natureza online* 13(4): 184-194.
- Sandulescu E.B., Scăețeanu G.V., Șchiopu T., Oltenacu N. & M.M. Stavrescu-Bedivan. 2016.** Morpho- anatomy and adaptation to some romanian aquatic environments of *Nymphoides peltata* (Gmel.) O. Kuntze (Asterales: Menyanthaceae). *Agronomy*, 59: 537-542.
- Scatigna A.V., Souza V.C., Sosa M.M., Colletta G.D., Machado R.M., Simões A. O. 2022.** Phylogenetics of Gratioleae (Plantaginaceae): paraphyly of *Stemodia* and its implications for generic circumscriptions, with insights from floral evolution. *Botanical Journal of the Linnean Society*: 200:194–217.
- Schweingruber F.H., Kučerová A., Adamec L. & J. Doležal. 2020.** Anatomic Atlas of aquatic and wetland plant stems. Cham: Springer. pp. 187-198.
- Schymanski S.J., Breitenstein D., Or D. 2017.** Technical note: an experimental set-up to measure latent and sensible heat fluxes from (artificial) plant leaves. *Hydrology and Earth System Sciences* 21: 3377– 3400.
- Semchechen T.R. 2004.** Morfo-anatomia dos órgãos vegetativos de *Bacopa myriophylloides* (Benth.) Wettst. (Scrophulariaceae) crescendo em solo alagado e não alagado. Monografia Graduação.
- Shalini V.T., Neelakanta S.J., & Sriranjini J.S. 2021.** Neuroprotection with *Bacopa monnieri*—A review of

- experimental evidence. *Molecular Biology Reports*, 48(3), 2653-2668.
- Shanmugam L., Ahire M., & Nikam T. 2020.** *Bacopa monnieri* (L.) Pennell, a potential plant species for degradation of textile azo dyes. *Environmental Science and Pollution Research* 27(9), 9349-9363.
- Sosa M.M. 2005.** Anatomía foliar y caulinar en especies de *Stemodia* (Scrophulariaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40(1-2): 61-71.
- . **2008.** Anatomía foliar y caulinar de *Stemodia hassleriana* (Scrophulariaceae), una especie endémica del Paraguay. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43(3-4): 255-259.
- Sosa M.M., O'Leary N. & P. Moroni. 2018.** Taxonomic revision of genus *Bacopa* (Plantaginaceae) in Argentina. *Phytotaxa* 336(1): 1-27.
- Stace C.A. 1966.** The use of epidermal characters in phylogenetic considerations. *New Phytol.* 65(3): 304- 318.
- Souza V.C. & A.M. Giuliatti, 2009.** Levantamento das espécies de Scrophulariaceae sensu lato nativas do Brasil. *Pesquisas Botânica* 60: 7–288
- Sudhakaran M.V. 2020.** Botanical Pharmacognosy of *Bacopa monnieri* (Linn.) Pennell.. *Pharmacogn J.* 12(6)Suppl:1559-72.
- Tattini M., E. Gravano P. Pinelli, N. Mulinacci & A. Romani. 2000.** Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytologist* 148: 69-77.
- Thomaz, S.M., & Cunha, E.R.D. 2010.** The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22, 218-236.
- Varshney A., Naresh C. & P. Avinash. 2017.** Anatomical markers and Phytochemical study of different plantparts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *International J. of Life Sciences* 5(3): 379-386.
- Werker E. 2000.** Trichome diversity and development. *Adv. Bot. Res.* 3: 1-35
- Wood B. & C. Mc-Atamney. 1994.** The use of macrophytes in bioremediation. *Biotechnol. Advances* 12(4): 653-662.
- Wu D., Li L., Zhang H., Ma X., Yang C., Huang G., & Zhang X. 2022.** Morpho-structural and histochemical features of *Plantago fengdouensis* (Plantaginaceae) that reflect adaptations to an amphibious environment. *Botany Letters* 1–8. DOI: 10.1080/23818107.2022.2052183
- Yunita R., Lestari E.G. & M. Mastur. 2018.** Perbanyakan tanaman hias air *Bacopa australis* secara in vitro pada berbagai formulasi hormon media pertumbuhan. *Media Akuakultur*, 13(2): 75-82.

EVALUACIÓN DEL DIRECTOR

La alumna **María Guadalupe Gómez** ha desarrollado las tareas planteadas en el plan de trabajo en el tiempo estipulado. Durante el avance de la tesina ha demostrado dedicación y responsabilidad, siempre con buena predisposición para aprender y realizar las tareas de investigación. Se ha incorporado al grupo de trabajo con entusiasmo tanto en su desempeño individual como grupal. El trabajo realizado implicó el aprendizaje de técnicas específicas de taxonomía, anatomía, como de programas de procesamiento de datos, de edición de imágenes, confección de mapas y el manejo de software para análisis estadísticos.

Se rescata que la alumna ha desarrollado el presente trabajo merced a una Beca de Pregrado, otorgada por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la UNNE, realizada en el IBONE otorgada por Resolución No 459/2020.

Los resultados preliminares de este trabajo fueron presentados en las XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica realizados en Entre Ríos, 6-8 de septiembre del 2021 y en XXVII Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2022.

Para finalizar consideramos que los objetivos presentados en el plan de tesina oportunamente propuestos se han cumplido satisfactoriamente y los resultados obtenidos posibilitaron la elaboración de nuevas hipótesis para el desarrollo de futuros estudios. Los resultados de esta tesina serán publicados en el transcurso del año.

EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA

Durante la elaboración del Trabajo Final de Graduación, se llevó a cabo el estudio de caracteres morfológicos, anatómicos, de distribución y estadísticos de especies argentinas del género *Bacopa* (Plantaginaceae). A continuación, se detallan las actividades realizadas por la alumna María Guadalupe Gómez:

1. Revisión bibliográfica, tanto de taxonómica clásica como de anatomía y morfología, la cual fue realizada durante toda la duración del TFG.
2. Manejo de material de herbario
3. Búsqueda de información de calidad en diferentes bases de datos.
4. Análisis morfo-anatómicos: Se estudiaron con MO y MEB la morfología y densidad de estomas, morfología de células epidérmicas, morfo-anatomía de tricomas, de lámina foliar y de los tallos, en especies *Bacopa*. Se tomaron fotografías de los preparados y se realizaron ilustraciones. Además se elaboró una clave para diferenciar a las especies según los caracteres de fácil observación
5. Aprendizaje de software específico para el análisis de datos y de edición de imágenes.
6. Salidas de recolección de ejemplares posteriormente estudiados.
7. Redacción del manuscrito del trabajo final de graduación (TFG).
8. Presentación de resultados parciales:
 - XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica realizadas en Entre Ríos.
 - XXVII Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2022.

OBSTÁCULOS Y DIFICULTADES EN EL DESARROLLO DEL PLAN

Debido a la pandemia por COVID-19, durante los primeros meses no se pudo trabajar en el laboratorio, sino que se llevaron a cabo las actividades referidas a búsqueda bibliográfica y revisión de bases de datos online.