



ANATOMÍA ECOLÓGICA DE ESPECIES DE *BACOPA* (GRATIOLEAE-PLANTAGINACEAE): MACRÓFITAS ACUÁTICAS DEL MACROSISTEMA IBERÁ

Ecological anatomy of *Bacopa* species (Gratiolleae-Plantaginaceae): aquatic macrophytes of the Iberá Macrosystem

María G. Gómez^{1,3*} , Ana M. Gonzalez^{1,2}  & María de las M. Sosa^{1,3} 

Resumen: La gran mayoría de las especies de *Bacopa* (Gratiolleae-Plantaginaceae) son plantas macrófitas que presentan una serie de adaptaciones morfológicas, anatómicas y eco-fisiológicas en sus órganos vegetativos. Se estudió la anatomía vegetativa de cinco especies de *Bacopa* presentes en el Iberá y una de humedales del Paraguay. Para el estudio de la anatomía foliar y caulinar se realizaron cortes paradermales y transversales a mano alzada y con micrótopo rotativo a partir de material previamente fijado. Se encontraron diferencias entre las 6 especies de *Bacopa* analizadas, en la hoja relacionadas a: tipos de tricomas; tipos, distribución y densidad de estomas; y en el tipo de mesofilo. Para el tallo, se caracterizaron dos patrones de aerénquima cortical que se relacionan con los ambientes que habitan las especies y sus adaptaciones al mismo. A modo de conclusión se elaboró una clave dicotómica con caracteres anatómicos vegetativos de las especies de *Bacopa* que crecen en los humedales.

Palabras clave: Aerénquima, anatomía vegetativa, taxonomía, tricomas.

Summary: Most *Bacopa* species (Gratiolleae-Plantaginaceae) are macrophyte plants with a series of morphological, anatomical, and eco-physiological adaptations in their vegetative organs. We studied the vegetative anatomy of five *Bacopa* species present in the Iberá Macrosystem, and one species of Paraguay wetland. To study leaf and cauline anatomy, paradermal and transverse sections were made with freehand and rotating microtome from previously fixed material. The anatomical studies showed differences between the *Bacopa* species analyzed concerning the leaf: types of trichomes; types, distribution, and the density of stomata; and mesophyll type. In terms of the stem, two patterns of cortical aerenchyma were characterized, which are related to the environments inhabited by the species and their adaptations. As a conclusion, a dichotomous key was elaborated with vegetative anatomical characters of the *Bacopa* species that grow in wetlands.

Key words: Aerenchyma, taxonomy, trichomes, vegetative anatomy.

Introducción

Bacopa L. es un género perteneciente a la tribu Gratiolleae (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

¹Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET), Sargento Cabral 2131, Corrientes, Argentina.

²Facultad de Ciencias Agrarias-UNNE, Sargento Cabral 2131, Corrientes, Argentina.

³Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura-UNNE, Av. Libertad 5460, 3400 Corrientes, Argentina.

* E-mail: mmercedessosa@exa.unne.edu.ar

especies de *Bacopa* y en la Argentina crecen 12 de ellas (Sosa *et al.*, 2018b). Este género está bien representado en grandes humedales neotropicales como el Iberá y Pantanal (Pott & Pott, 1997, 2000; Arbo & Tressens, 2002; Pott *et al.*, 2011).

La ecorregión Esteros del Iberá está formada por un sistema de esteros, bañados, lagunas someras y cursos de aguas interconectados (Neiff, 2004). En la revisión de su flora, Arbo & Tressens (2002) registraron 8 especies: *Bacopa congesta* Chodat & Hassl., *B. dubia* Chodat & Hassl., *B. monnieri* (L.) Wettst., *B. paraguariensis* (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. Estas especies son plantas palustres o acuáticas emergentes; con tallos erectos o postrados; que crecen en cuerpos de agua como lagunas y esteros, terrenos húmedos e inundados, como llanuras aluviales, suelos arenosos y pantanosos (Sculthorpe, 1967; Cook, 1974; Sosa *et al.*, 2018a, 2018b; Sosa *et al.*, 2021).

En Paraguay, la superficie del país está cubierta por un 25 a 30% de humedales, sobre todo en la región Oriental, donde viven 15 especies de *Bacopa*, entre ellas *B. axillaris* (Benth.) Standl., se trata de una planta palustre, erecta, que habita en llanuras aluviales y en los arrozales del Chaco Húmedo y el Cerrado (Sosa *et al.*, 2021).

Las estrategias ecológicas adquiridas durante la evolución de este género, le 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 papel ecológico fundamental, son autótrofos macroscópicos que crecen como formas sumergidas, emergentes y flotantes en ecosistemas acuáticos (Chambers *et al.*, 2008).

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).

De las especies que crecen en Argentina, se destaca *Bacopa monnieri*; es una especie que 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 (Mathur *et al.*, 2010; Banerjee *et al.*, 2021). Los metabolitos secundarios de *B. monnieri* determinaron su potencial uso para el tratamiento de la epilepsia, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, isquemias 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). Algunas especies de *Bacopa* son utilizadas como ornamentales en acuarios (Nugraha *et al.*, 2017).

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 estrés 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 & McAtamney, 1994; Baruah *et al.*, 2014; Guittonny-Philippe *et al.*, 2015; Napaldet *et al.*, 2019; Olanaront *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).

Por otro lado, 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 (Lersten & Curtis, 1997, 2001; Armstrong, 1985; Michener, 1983; Hamed *et al.*, 2014; Oskolski *et al.*, 2021; Al-Shami & Al-Hadeethi *et al.*, 2022). Además de los estudios bioquímicos, genéticos y fisiológicos, los taxónomos han encontrado en el análisis de la anatomía foliar y caulinar, especialmente en el indumento, la posibilidad de ampliar el espectro de información valiosa a la hora de agrupar las especies por sus características diferenciales (Stace, 1966; Barthlott, 1980).

Una de las principales características de las macrófitas acuáticas es la presencia de un aerénquima bien desarrollado. Sin embargo, como este tejido también está presente 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).

Los estudios anatómicos foliares y caulinares permitieron diferenciar a especies del género *Stemodia* L., emparentado filogenéticamente con *Bacopa*; las diferencias encontradas se basaron exclusivamente en caracteres anatómicos (Sosa 2005, 2008). En dichos trabajos también se estableció una correlación entre los caracteres morfo-anatómicos y el ambiente donde viven.

Los estudios anatómicos en el género *Bacopa* están limitados a pocas especies, se estudiaron los órganos vegetativos de *B. caroliniana* (Walter) B. L. Rob., *B. monnieri*

y *B. myriophylloides* (Benth.) Wettst. (Lersten & Gunning, 1975; Semchechen, 2004; Bercu, 2010; 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).

En este trabajo se estudió la anatomía vegetativa ecológica de especies de *Bacopa congesta*, *B. dubia*, *B. monnieri*, *B. scabra* y *B. salzmännii*, que crecen en el Macrosistema Iberá y de *B. axillaris* que habita humedales de Paraguay, con el objetivo de conocer las adaptaciones de estas plantas al ambiente y contribuir a la taxonomía del género.

Materiales y Métodos

Estudios anatómicos

El material utilizado fue conservado en FAA (formol: alcohol etílico; ácido acético 5:90:5). Se seleccionaron porciones foliares y caulinares que se encuentran en la parte media de la planta para realizar cortes 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 (Gonzalez & Cristóbal, 1997). Los cortes transversales y paradermales se efectuaron con micrótopo rotativo en espesores entre 8-15 µm. Las secciones fueron montadas en portaobjetos con adhesivo de Haupt para luego ser coloreados 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 y obtención de epidermis foliar, siguiendo el método de Dizeo de Strittmatter (1973) y técnica de “peeling” (D’Ambrogio de Argüeso, 1986), seleccionando al menos cinco hojas. De cada preparado se seleccionaron al azar tres campos y se cuantificaron las células epidérmicas propiamente dichas y los estomas. Se determinó el índice estomático con la fórmula: I.E.= (frecuencia de estomas / frecuencia de estomas + frecuencia de células epidérmicas)

× 100 de Salisbury (Metcalf & Chalk, 1979). Para el cálculo del índice de porosidad se utilizó la fórmula =100*(área de espacios de aire / área total del tallo) siguiendo a Visser & Bögemann (2003). También se calculó el área que ocupan las distintas regiones del tallo: córtex (incluyendo epidermis), el cilindro vascular y la médula. Las áreas se midieron a partir de cortes transversales, según la fórmula: 100*(área ocupada por la región en estudio/área total del tallo). Todas las mediciones y recuentos se realizaron usando el programa ImageJ (Rasband, 1997; González, 2018).

Para la observación con 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 con un voltaje de 20 Kv, 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 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 realizaron considerando el “Atlas of Aquatic and Wetland Plant Stems” (Schweingruber *et al.*, 2020).

Material examinado

Bacopa axillaris. **PARAGUAY. Dep. Amambay:** Bella Vista, 11-III-2018, *De Madrignac & Sosa 2021* (CTES, FCQ); *De Madrignac & Sosa 2023* (CTES, FCQ).

Bacopa congesta. **ARGENTINA. Corrientes:** Dep. Ituzaingó: Predio Santo Domingo, 15-IV-2008, *Keller et. al. 5342* (CTES). **PARAGUAY. Dep. Amambay:** Bella Vista, 10-III-2018, *De Madrignac & Sosa 2014* (CTES, FCQ) ídem, 11-III-2018, *De Madrignac & Sosa 2024* (CTES, FCQ).

Bacopa dubia. **ARGENTINA. Corrientes:** Dep. Concepción, Ea. Tranquera de Hierro,

3-XII-1996, *Arbo et al. 7002* (CTES); Dep. Mburucuyá, camino al Parque Nacional Mburucuyá, 28-X-2021, *Sosa & Gómez 301* (CTES); Dep. San Cosme, Las Lomas, 26-II-2015, *Medina & Salas 863* (CTES).

Bacopa monnieri. **ARGENTINA. Corrientes:** Dep. Concepción, Santa Rosa, 02-XI-2021, *Sosa & Gómez 303* (CTES). Dep. Mercedes, Ea. Rincón del Diablo, Macrosistema Iberá, 4-XII-1998, *Arbo et al. 8290* (CTES).

Bacopa salzmannii. **ARGENTINA. Corrientes:** Dep. Mburucuyá, camino al Parque Nacional Mburucuyá, 28-X-2021, *Sosa & Gómez 302* (CTES). Dep. San Miguel, sobre el arroyo Carambola, 14-III-01, *Arbo 8786* (CTES).

Bacopa scabra. **ARGENTINA. Corrientes:** Dep. Concepción, Santa Rosa, 02-XI-2021, *Sosa & Gómez 304* (CTES); Dep. Santo Tomé, Reserva Natural Provincial del Iberá, Laguna Galarza, 25-IV-1995, *Arbo 6563* (CTES).

Resultados

Anatomía Foliar

Los caracteres diferenciales foliares de las seis especies de *Bacopa* estudiadas se detallan en la Tabla 1.

Epidermis (Figs. 1, 2, 3): la cutícula es estriada y delgada (4-7 µm) en todas las especies analizadas (Fig. 1). La epidermis es uniestratificada. Las células epidérmicas propiamente dichas, en corte transversal son de altura muy variable (23-170 µm), destacándose *B. axillaris* y *B. congesta* por el tamaño de las células de la epidermis adaxial (Fig. 3B, F). En vista superficial, las seis especies tienen las células epidérmicas propiamente dichas con paredes anticlinales rectas a curvas en la cara adaxial. En la cara abaxial, cinco de las especies estudiadas tienen paredes anticlinales sinuosas, *B. scabra* presenta paredes anticlinales rectas a curvas.

Tricomas: todas las especies de *Bacopa* analizadas presentan un indumento formado por cuatro tipos de tricomas en ambas caras de la hoja (Tabla 1, Fig. 1).

Tipo I: tricoma eglandular bicelular, con una célula basal ensanchada y una célula apical

Tabla 1. Caracteres anatómicos foliares de las especies de *Bacopa* estudiadas.**Table 1.** Leaf anatomical characters of the *Bacopa* species studied.

Especies	I	Tricomas		Estomas				Mesofilo	
		Tipo	Posición	Tipo	Nivel	Índice estomático (%)		Tipo	Estratos parénquima empalizada
						E	I		
<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	2-3
<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. salzmännii</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*: E: adaxial, I: abaxial, =: paredes rectas, ~: paredes curvas, Ω: paredes onduladas en forma de letra omega. *Estomas*: A: hoja anfiestomática, H: hoja hipoestomática; Nivel de los estomas: v: elevados, n: a nivel. *Mesofilo*: D: dorsiventral, el número indica el número de estratos, H: homogéneo.

Abbreviations: *Epidermis*: E: adaxial, I: abaxial, =: straight walls, ~: curved walls, Ω: omega-shaped wavy walls, *Stomata*: A: amphistomatic leaf, H: hypostomatic leaf; Stomatal level: v: elevated, n: level; *Mesophyll*: D: dorsiventral, the number indicates the number of strata, H: homogeneous.

de ápice agudo, de paredes engrosadas en el extremo, cubierto con cutícula lisa. Este tricoma fue observado principalmente en la cara adaxial de las hojas de *B. axillaris*, *B. congesta*, *B. dubia*, *B. salzmännii* y *B. scabra* (Fig. 1B).

Tipo II: tricoma eglandular pluricelular uniseriado (2-6 células), con una a dos células basales que suelen ser más grandes que las células epidérmicas adyacentes, con células apicales de ápice agudo (Fig. 1A). 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 (Fig. 1A, 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. Cubierto por una cutícula lisa. Se encuentran en las seis especies estudiadas tanto en la cara adaxial como en la cara abaxial de la lámina (Fig. 1E, 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 (Fig. 1G, H).

Estomas: la lámina es anfiestomática en todas las especies analizadas excepto en *B. congesta*, que cuenta con una lámina hipoestomática. Los estomas son anomocíticos

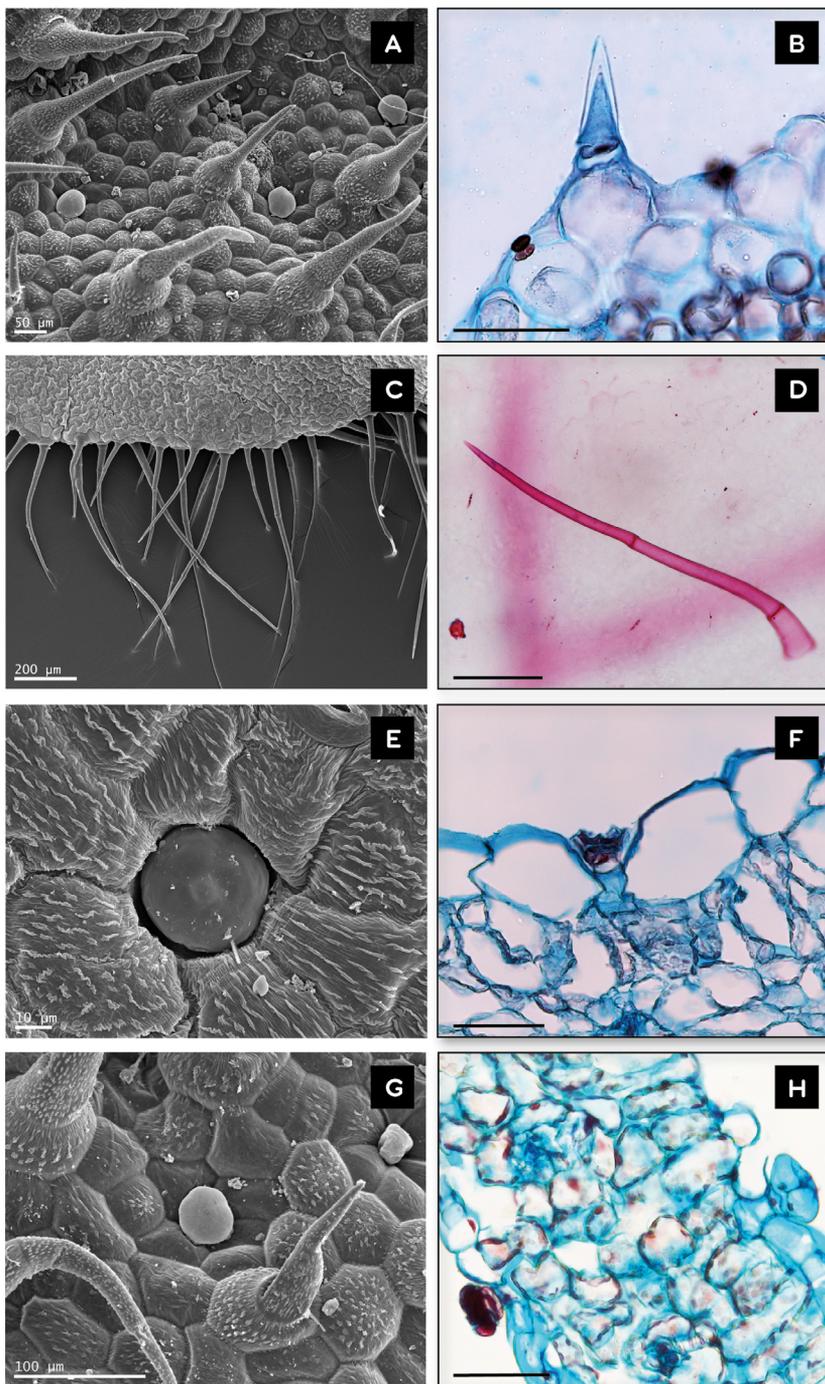


Fig. 1. Microfotografías de tricomas de las especies de *Bacopa* (MEB, MO). A: Tricomas I y IV en hoja de *B. congesta*. B: Tricoma I en hoja de *B. scabra*. C y D: Tricoma II en hoja de *B. salzmannii*. E: Tricoma III en hoja de *B. monnieri*. F: Tricoma III en hoja de *B. axillaris*. G: Tricoma IV en hoja de *B. congesta*. H: Tricoma IV en hoja de *B. scabra*. Escalas: A, B, D, F, H: 50 µm; C: 200 µm; E: 10 µm; G: 100 µm.

Fig. 1. Microphotographs on trichomes of *Bacopa* species (SEM, MO). A: Trichomes I and IV on the leaf of *B. congesta*. B: Trichome I on the leaf of *B. scabra*. C and D: Trichome II on the leaf of *B. salzmannii*. E: Trichome III on the leaf of *B. monnieri*. F: Trichome III on the leaf of *B. axillaris*. G: Trichome IV on the leaf of *B. congesta*. H: Trichome IV on the leaf of *B. scabra*. Scales: A, B, D, F, H: 50 µm; C: 200 µm; E: 10 µm; G: 100 µm.

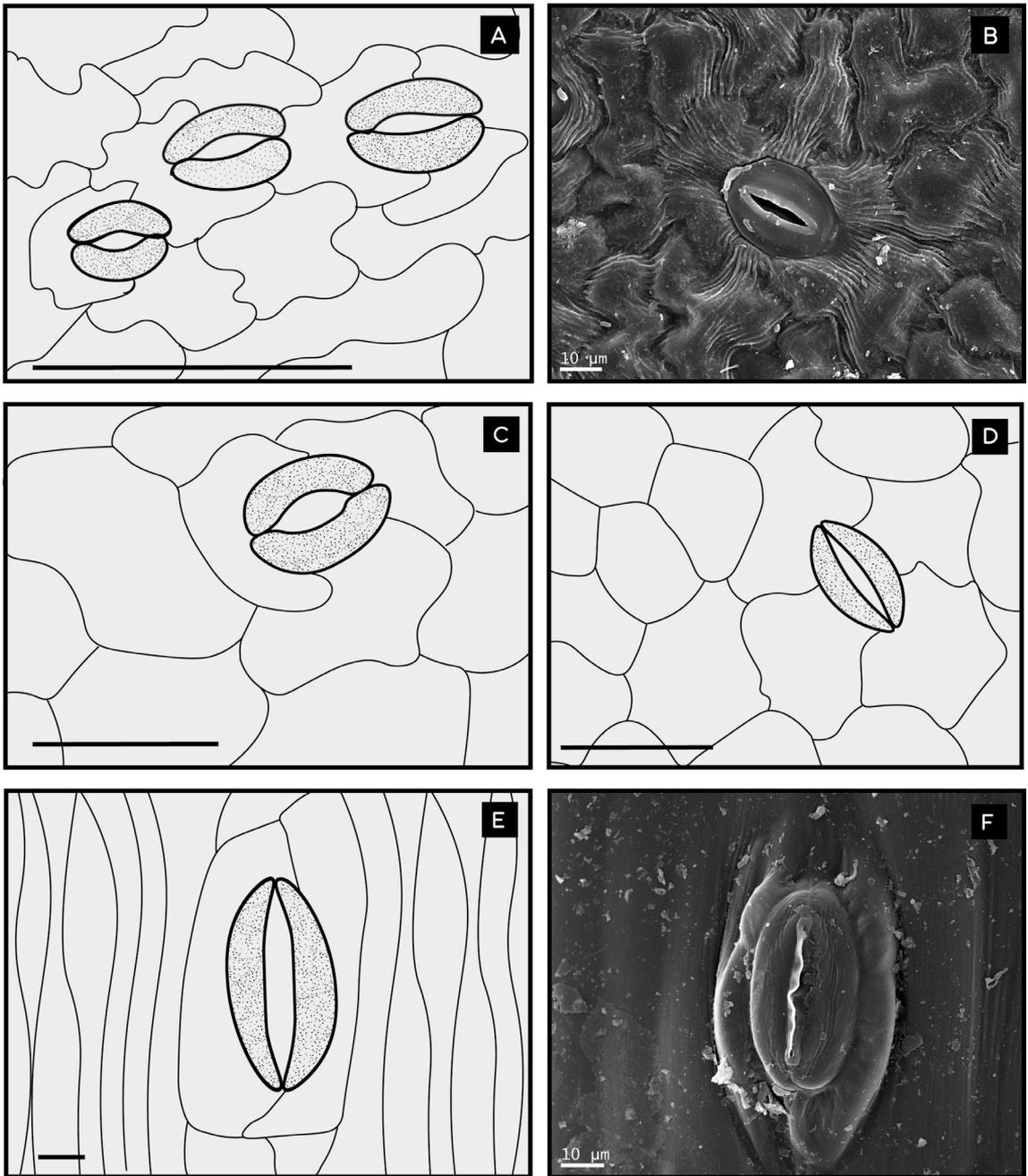


Fig. 2. Ilustraciones y microfotografías de MEB de estomas en hojas y tallos de *Bacopa*. A: Estomas anomocíticos en hoja de *B. axillaris*. B: Estoma anomocítico en hoja de *B. monnieri*. C: Estoma anisocítico en hoja de *B. axillaris*. D: Estoma tetracítico en hoja de *B. scabra*. E: Estoma paracítico en tallo de *B. scabra*. F: Estoma paracítico en tallo de *B. congesta*. Escalas: A: 100 μm ; C, D: 50 μm ; E: 10 μm .

Fig. 2. Illustrations and SEM microphotographs of stomata in leaves and stems of *Bacopa*. A: Anomocytic stomata in leaf of *B. axillaris*. B: Anomocytic stoma in leaf of *B. monnieri*. C: Anisocytic stoma in leaf of *B. axillaris*. D: Tetracytic stoma in leaf of *B. scabra*. E: Paracytic stoma of *B. scabra* stem. F: Paracytic stoma on stem of *B. congesta*. Scales: A: 100 μm ; C, D: 50 μm ; E: 10 μm .

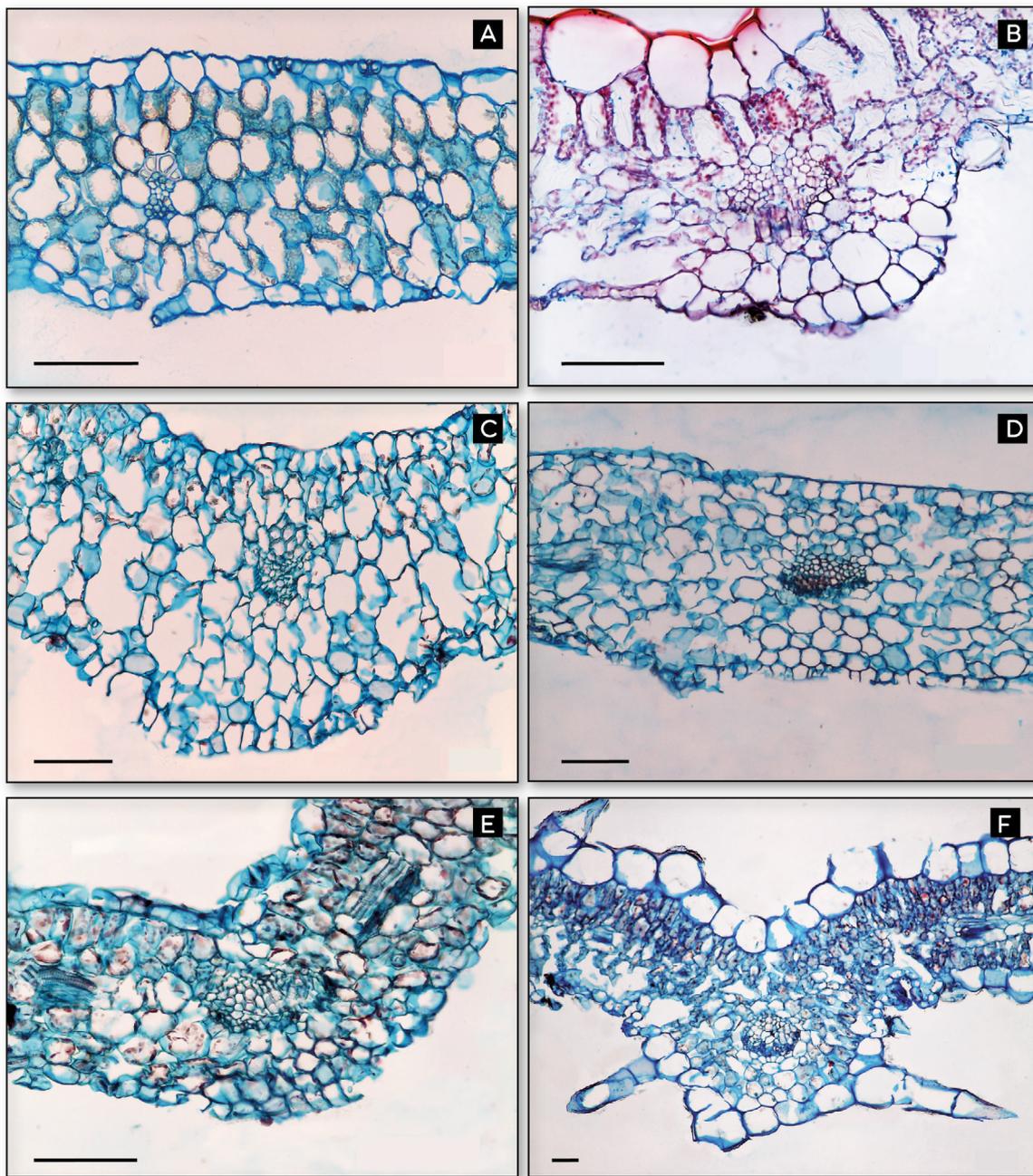


Fig. 3. Microfotografías de cortes transversales foliares de las especies de *Bacopa* (MO). A: Mesofilo dorsiventral de *Bacopa dubia*. B: Mesofilo dorsiventral de *B. axillaris*. C: Mesofilo dorsiventral de *B. salzmannii*. D: Mesofilo homogéneo de *B. monnieri*. E: Mesofilo dorsiventral de *B. scabra*. F: Mesofilo dorsiventral de *B. congesta*. Escalas: A-F: 100 μ m.

Fig. 3. Microphotographs leaf cross sections of *Bacopa* species (MO). A: Dorsiventral mesophyll of *Bacopa dubia*. B: Dorsiventral mesophyll of *B. axillaris*. C: Dorsiventral mesophyll of *B. salzmannii*. D: Homogeneous mesophyll of *B. monnieri*. E: Dorsiventral mesophyll of *B. scabra*. F: Dorsiventral mesophyll of *B. congesta*. Scales: A-F: 100 μ m.

en *B. dubia*, *B. monnieri* y *B. salzmannii* (Fig. 2A, 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 (Fig. 2C). Los estomas son tetracíticos en *B. scabra* y *B. congesta* (Fig. 2D). 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* (Fig. 2E-F).

Mesofilo (Fig. 3): es dorsiventral en cinco especies estudiadas, sólo en *B. monnieri* es homogéneo con células redondeadas (Fig. 3D). Las especies con mesofilo dorsiventral, presentan 1 capa de células del parénquima clorofiliano en empalizada en *B. axillaris*, *B. dubia* y *B. salzmannii* (Fig. 3A-C); y 2-3 capas en *B. scabra* y *B. congesta* (Fig. 3E-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 (Fig. 3D). 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 pequeños paquetes de fibras por fuera del xilema y del floema, rodeados por una vaina de 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* (Fig. 3B, C, E-F). Las venas laterales de menor tamaño también poseen una vaina y fibras acompañando a los tejidos vasculares (Fig. 3F).

Anatomía caulinar

Las especies de *Bacopa* presentan diferencias en la estructura anatómica del tallo, las que fueron detalladas en la Tabla 2, Figs. 4 y 5. En *B. axillaris*, *B. dubia* y *B. salzmannii* la sección es circular (Fig. 4A-C), *B. monnieri* presenta un tallo circular a levemente cuadrangular (Fig. 4D) y en *B. congesta* y *B. scabra* la sección es cuadrangular con la presencia de costillas (Figs. 4E-F, 5A).

Epidermis: es uniestratificada con una delgada cutícula estriada en todas las especies estudiadas. Se observan los mismos cuatro

tipos de tricomas descritos para las hojas (Fig. 1). *Bacopa congesta*, *B. monnieri* y *B. scabra* son las únicas especies donde se observó estomas de tipo paracítico (Fig. 2E-F).

Córtex: formado principalmente por aerénquima, el tamaño y distribución de los espacios intercelulares de este tejido varía entre las especies desde espacios pequeños a verdaderas cámaras aeríferas. En *B. dubia*, *B. axillaris* y *B. salzmannii* hay un anillo de cámaras aeríferas dispuestas radialmente en el córtex, separadas por filas uniseriadas de células parenquimáticas, rectangulares a ligeramente alargadas en corte transversal (Fig. 4A-C). *Bacopa congesta*, *B. monnieri* y *B. scabra* presentan cámaras aeríferas de menor tamaño y dispuestas en varios ciclos desordenados en el córtex (Fig. 4D-F). En estas tres últimas especies las células del aerénquima son de contorno circular a poligonal. En *B. congesta* y *B. scabra* el parénquima cortical está más desarrollado en las zonas de las costillas. El aerénquima de los tallos corresponde a dos de los tipos propuestos por Jung *et al.* (2008): “esquizógeno de panal” con espacios de aire desordenados y de tamaño irregular y “esquizógeno de rueda”, esta forma queda determinada por amplios espacios de aire de tamaño regular, dispuestos radialmente. El índice de porosidad de las especies estudiadas determinó el porcentaje más alto en *B. axillaris* y *B. salzmannii* que superaron el 50%; mientras que el porcentaje más bajo se observó en *B. congesta* (11,22%).

Cilindro central: en *B. dubia*, *B. salzmannii* y *B. monnieri* se observa una capa de endodermis con banda de Caspary en primer estadio rodeando al cilindro vascular (Fig. 5B). Los tejidos de conducción en todas las especies analizadas forman una sifonostela, con xilema por dentro y floema por fuera, con pequeños casquetes de fibras perifloemáticas (Fig. 5).

Médula: está formada por células 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 (medidas expresadas en relación de porcentaje, Tabla 2). En *B. scabra* y *B. congesta* las células de la médula dejan espacios intercelulares, en las restantes hay un parénquima compacto. Las

Tabla 2. Características anatómicas caulinares de las especies de *Bacopa* estudiadas.**Table 2.** Stems anatomical characters of the *Bacopa* species studied.

Especies	Tallo	Contorno	Estoma	Tricomas	Patrón de aerénq.	Aerénq. cortical (IP)	Córtex + epidermis (% en CT)	Médula (% en CT)	Cilindro vascular (% en CT)
<i>B. axillaris</i>	Erecto	Circular	Ausente	Tipo II y III	Esq. en forma de rueda	54,32	65,02	27,18	6,92
<i>B. congesta</i>	Erecto	Cuadr.	Paracítico	Tipo I, II y IV	Esq. de panal	1,8	29,8	25,94	43,9
<i>B. scabra</i>	Erecto	Cuadr.	Paracítico	Tipo III	Esq. de panal	7,85	53,52	36,66	9,82
<i>B. monnieri</i>	Postrado	Subcuadr.	Paracítico	Tipo III	Esq. de panal	17,5	90,42	1,91	6,97
<i>B. dubia</i>	Postrado	Circular	Ausente	Tipo II y III	Esq. en forma de rueda	27,02	88,11	1,7	9,21
<i>B. salzmannii</i>	Postrado	Circular	Ausente	Tipo II y IV	Esq. en forma de rueda	54,89	95,17	1,68	2,5

Abreviaturas: Aerénq.: Aerénquima, CT: Corte transversal, Cuadr.: Cuadrangular, Esq.: Esquizogenia, IP: índice de porosidad, Subcuadr.: Subcuadrangular.

Abbreviations: Aerenq.: Aerenchyma, CT: Cross section, Cuadr.: Quadrangular, Esq.: Schizogeny, IP: Porosity Index. Subquadr.: Subquadrangular

células parenquimáticas corticales y medulares de la mayoría de las especies presentan drusas, excepto *B. monnieri* (Fig. 5D).

Discusión y Conclusión

Las diferencias anatómicas de los caracteres foliares en las especies de *Bacopa* analizadas en este trabajo se manifestaron en caracteres como indumento, tipos y disposición de estomas y tipos de mesofilo. 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 descritos en este trabajo 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, y cutícula estriada (Semchechen, 2004; Sudhakaran, 2020).

Los tricomas presentes en la epidermis de *Bacopa* pueden ser eglandulares y glandulares, estos últimos son una característica común en la familia Plantaginaceae (Metcalf & Chalk, 1979). En ese sentido, ya se ha establecido la utilidad taxonómica de los caracteres epidérmicos en otros géneros de la familia, como *Veronica* L., donde los tricomas fueron caracteres diagnósticos útiles para la identificación de especies (Al-Hadeethi, 2022).

En *B. monnieri* solamente se presentan tricomas glandulares, en concordancia con lo descrito por Sudhakaran (2020), a diferencia de las restantes especies estudiadas, donde la gran mayoría tienen los otros tipos de tricomas: tricomas eglandulares pluricelulares, uniseriados y tricomas glandulares con pedúnculo corto y cabeza unicelular o pluricelular, similares a los descritos para *B. myriophylloides*. Usualmente se le asignan funciones protectoras a los tricomas eglandulares, sobre todo contra la transpiración (Tattini *et al.*, 2000; Werker, 2000).

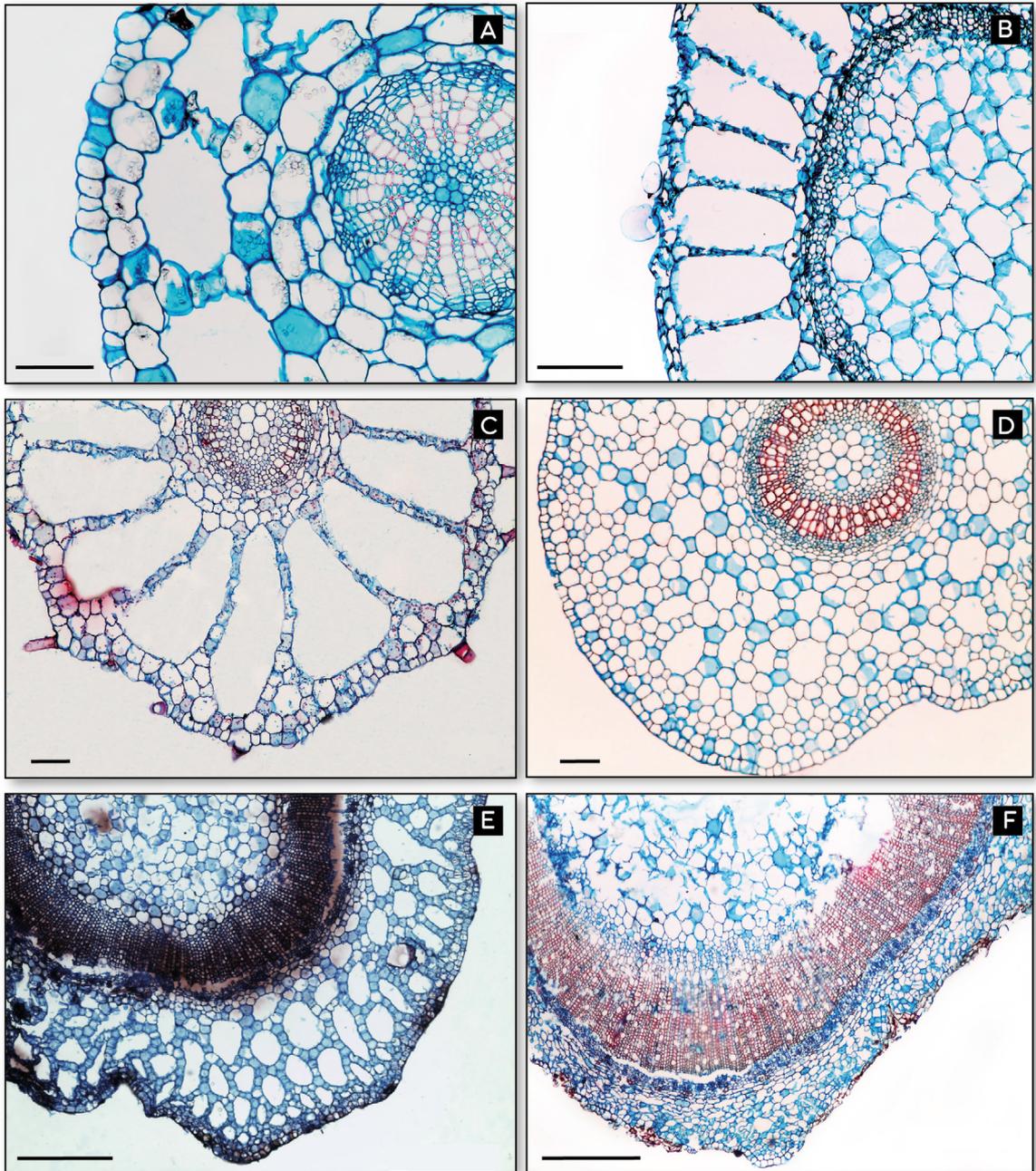


Fig. 4. Microfotografías de cortes transversales caulinares de las especies de *Bacopa* (MO). A: *Bacopa dubia*. B: *B. axillaris*. C: *B. salzmannii*. D: *B. monnieri*. E: *B. scabra*. F: *B. congesta*. Escalas: A, C-D: 100 μm ; B: 200 μm ; E-F: 500 μm .

Fig. 4. Microphotographs stem cross sections of *Bacopa* species (MO). A: *Bacopa dubia*. B: *B. axillaris*. C: *B. salzmannii*. D: *B. monnieri*. E: *B. scabra*. F: *B. congesta*. Scales: A, C-D: 100 μm ; B: 200 μm ; E-F: 500 μm .

En cuanto a los estomas, se dan a conocer cuatro tipos: anomocíticos, anisocíticos, tetracíticos y paracíticos, los que permiten

diferenciar a las especies. Los tipos anisocíticos y anomocíticos fueron descritos para *B. caroliniana*, *B. monnieri* y *B. myriophylloides*

(Semchechen, 2004; Bercu, 2010; Varshney *et al.*, 2017; Sudhakaran, 2020), sin embargo, en este trabajo se describen por primera vez en el género estomas tetracíticos en hojas de *B. congesta* y *B. scabra* y paracíticos en los tallos de *B. congesta*, *B. monnieri* y *B. scabra*. La gran diversidad en los tipos de estomas ya fue descrita en el género *Callitriche* L. (Plantaginaceae) por Doll *et al.* (2021) quienes la relacionan con su diversidad ecológica. En ese sentido, estos autores, observaron que, en las especies terrestres, las células precursoras de los estomas se dividen varias veces antes de diferenciarse finalmente en estomas, a

diferencia de lo que ocurre en las especies palustres, donde las células precursoras se saltan la primera etapa de división y luego se diferencian directamente en estomas. 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.

En las especies de *Bacopa* estudiadas se observaron dos modos de distribución estomática, la gran mayoría tienen hojas anfiestomáticas, excepto *B. congesta* que presenta lámina hipoestomática. Según

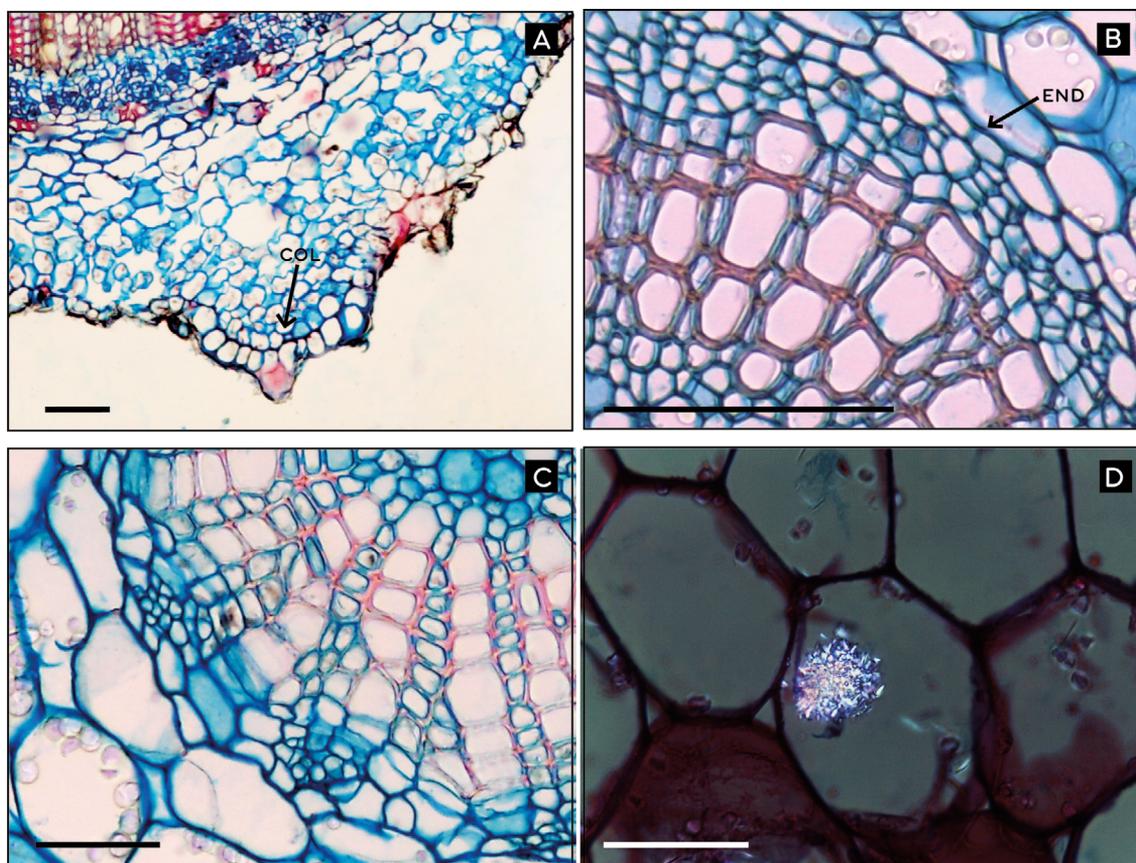


Fig. 5. Microfotografías de detalles de cortes transversales caulinares (MO). A: Costillas con colénquima en *B. congesta*. B: Capa de células endodérmicas en *B. monnieri*. C: Detalle de los pequeños casquetes de fibras perifleomáticas en *B. dubia*. D: Drusa en médula de *B. congesta*, fotografía con luz polarizada. col: colénquima; end: endodermis. Escalas: A-B: 100 μ m; C-D: 50 μ m.

Fig. 5. Microphotographs of details of stem cross sections (MO). A: Ribs with collenchyma in *B. congesta*. B: Endodermal cell layer in *B. monnieri*. C: Detail of small perifleomatic fiber caps in *B. dubia*. D: Druse in the pith of *B. congesta*, photograph with polarized light. col: collenchyma; end: endodermis. Scales: A-B: 100 μ m; C-D: 50 μ m.

Drake *et al.* (2019) la hoja anfiestomática que se observa en las herbáceas anuales de rápido crecimiento, mejora la capacidad de intercambio de gases hoja-atmósfera, y también favorece la evapotranspiración, sobre todo en los estomas orientados hacia la cara superior. En cinco especies de *Bacopa* estudiadas, que presentaron hojas anfiestomáticas, se observó un índice estomático más bajo en la cara adaxial, rasgo que puede ser considerado beneficioso para que las hojas reduzcan la pérdida de agua. Además, se considera que *B. congesta*, con hojas hipostomáticas, podría reducir aún más la transpiración y aumentar ligeramente la eficiencia fotosintética en el lado de la hoja expuesta al sol (Schymanski & Breitenstein, 2017).

Se describe por primera vez la estructura del mesofilo dorsiventral con parénquima en empalizada y lagunoso, en cinco especies de *Bacopa* estudiadas, la única especie con parénquima homogéneo es *B. monnieri*, coincidente con las descripciones 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 caulinar, 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 hábito palustre, 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 hypotoides* Cham. & Schltdl. (Sosa, 2005).

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 además la presencia de un periciclo de 1 o 2 capas en el tallo, carácter que tiende a ser común en las raíces de las plantas, pero en los tallos no es habitual (Varshney *et al.*, 2017). Sin embargo,

se observó en los tallos de *B. caroliniana*, donde se considera que la endodermis del tallo es un rasgo distintivo de las plantas acuáticas o de humedales, derivadas de ancestros terrestres, donde su presencia en las plantas de la base de algunas líneas de angiospermas sugiere que puede haber estado presente al principio de la evolución de las angiospermas (Seago, 2020). 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; y determinaron que tanto la endodermis en los tallos, como los espacios de aire en los tallos y una capa de esclerénquima pueden reflejar adaptaciones que permiten que las especies prosperen en zonas ribereñas.

Se destaca la diferencia en 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 & Armstrong, 1999). Sin embargo, el aerénquima de los tallos de *Bacopa* se corresponde con dos de los tipos propuestos por Jung *et al.* (2008): *B. monnieri*, *B. scabra* y *B. congesta* presentan un aerénquima esquizógeno de panal; sin embargo *B. dubia*, *B. salzmännii* y *B. axillaris* presentan un aerénquima esquizógeno en forma de rueda, el cual se caracterizan por la presencia de lagunas dispuestas radialmente en el córtex, de tamaño regular circular o poligonal, separadas entre sí por septos uniseriados. En general, la presencia de aerénquima en forma de rueda está relacionada con el ambiente donde viven, frecuente en plantas acuáticas o aquellas que soportan grandes períodos de inundación, ejemplo en Lamiales, familias cercanas como Scrophulariaceae (Jung, 2008; Krähmer, 2016). Este tipo de aerénquima ya fue encontrado previamente en *B. caroliniana* (Bercu, 2010).

La presencia de una sifonostela ectofloica ya fue descrita en *B. caroliniana* por Lersten & Gunning (1975), quienes sugieren que este tema debía ser analizado en otras especies. En

este trabajo se confirma que este tipo de estela es característico para el género, pudiendo variar en el desarrollo alcanzado por el xilema en las distintas especies aquí analizadas.

Al analizar comparativamente las características morfo-anatómicas caulinares junto a la posición del mismo se aprecia que las especies con tallos postrados (*B. dubia*, *B. monnieri* y *B. salzmannii*) tienen en común el escaso desarrollo de la médula (menor a 2,7 %), a su vez son las de mayor porcentaje del tallo ocupado por el córtex y sistema

vascular. Sin embargo, no implica que sean las que presentan mayor índice de porosidad o presenten el mismo patrón de aerénquima (Tabla 2).

En conclusión, este trabajo permitió el aporte de una clave dicotómica con 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.

Clave basada en caracteres anatómicos para diferenciar las especies estudiadas

1. Hoja con mesofilo homogéneo. Tallo sin drusas. *B. monnieri*
- 1'. Hoja con mesofilo dorsiventral. Tallo con drusas en células corticales y medulares. 2
2. Hojas con estomas anomocíticos y anisocíticos. Tallo de contorno circular con endodermis, aerénquima esquizógeno en forma de rueda. 3
3. Hojas con estomas anomocíticos en la cara abaxial y estomas anisocíticos en la cara adaxial.
..... *B. axillaris*
- 3'. Hojas con estomas anomocíticos en ambas caras. 4
4. Tricomas tipos I, II, III y IV. *B. salzmannii*
- 4'. Tricomas solo tipos II y III. *B. dubia*
- 2'. Hojas con estomas tetracíticos. Tallo de contorno cuadrangular sin endodermis, aerénquima esquizógeno de panal. 5
5. Hoja hipoestomática. *B. congesta*
- 5'. Hoja anfiestomática. *B. scabra*

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido apoyo económico del CONICET (PIP-11220150100125) y SGCyT-UNNE (PI-19P005). La primera autora agradece a la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE) por la beca de investigación que permitió la realización de este estudio.

Bibliografía

- AHIRE, M. L., LAXMI, S., WALUNJ, P. R. KISHOR, P. B. & NIKAM, T. D. (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. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 23: 366-378. <https://doi.org/10.1007/s13562-013-0220-z>
- AL-HADEETHI, M. A. H., HAWAR, S. N., AL-TAIE, A. T., & AHMED, L. Q. (2022). Morphological and anatomical review of some *Veronica* species from the Plantaginaceae family. *Journal of Pharmaceutical Negative Results* 192-197.
- AL-SHAMI, S. S. D. & AL-HADEETHI, M. A. H. (2022). Study on epidermis features of some Iraqi *Veronica* L. species (Plantaginaceae). *Indian Journal of Ecology* 49: 457-464.
- ARMSTRONG, J. E. (1985). The delimitation of Bignoniaceae and Scrophulariaceae based on floral

- anatomy, and the placement of problem genera. *American Journal of Botany* 72: 755-766. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1985.tb08336.x>
- ARBO, M. M. & TRESSENS, S. G. (2002). Flora del Iberá. EUDENE, Corrientes.
- BARTHLOTT, W. (1980). Morphogenese und Mikromorphologie komplexer Cuticular-Faltungsmuster an Blüten-Trichomen von *Antirrhinum* L. (Scrophulariaceae). *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 93: 379-390.
- BANERJEE, S., ANAND, U., GHOSH, S., RAY, D., RAY, P., NANDY, S., DESHMUKH, D., TRIPATHI, V. & DEY, A. (2021). Bacosides from *Bacopa monnieri* extract: An overview of the effects on neurological disorders. *Phytotherapy Research* 35: 5668-5679.
- BARUAH, P., SAIKIA, R. R., BARUAH, P. P. & DEK, S. (2014). Effect of crude oil contamination on the chlorophyll content and morpho-anatomy of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. *Environmental Science and Pollution Research* 21: 12530-12538. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3195-y>
- BERCU, R. (2010) Histoanatomy of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Robins. *Biologie* 18: 99-102.
- BONA, C. & MORRETES, B. L. (2003). Anatomia das raízes de *Bacopa salzmännii* (Benth.) Wettst. Ex Edwall e *Bacopa monnierioides* (Cham.) Robinson (Scrophulariaceae) em ambientes aquático e terrestre. *Acta Botanica Brasilica* 17: 155-170. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000100012>
- CHAMBERS, P. A., LACOUL, P., MURPHY, K. J. & THOMAZ, S. M. (2008). Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 9-26. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9154-6>
- COOK, C. D. (1974). Water plants of the world a manual for identification of the genera of freshwater macrophyta (No. 582/C771).
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. (1986). Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- DALLA-VECCHIA, A., VILLA, P. & BOLPAGNI, R. (2020). Functional traits in macrophyte studies: Current trends and future research agenda. *Aquatic Botany* 167: 103290. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103290>
- DIZEO DE STRITTMATTER, C. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 126-129.
- DOLL, Y., KOGA, H., & TSUKAYA, H. (2021). The diversity of stomatal development regulation in *Callitriche* is related to the intrageneric diversity in lifestyles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118: 118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2026351118>
- 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: 1179-1187. <https://doi.org/10.1111/nph.15652>
- ERIKSSON, P. G. (2001). Interaction effects of flow velocity and oxygen metabolism on nitrification and denitrification in biofilms on submersed macrophytes. *Biogeochemistry* 55: 29-44.
- GONZALEZ, A. M. (2002). Anatomía del vástago en especies selectas de plantas hidrófilas. En ARBO, M. A. & S. G. TRESSENS (eds.), Flora del Iberá, pp. 431-450. EUDENE, Corrientes, Argentina.
- GONZALEZ, A. M. (2018). ImageJ: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico. *FOLIUM, relatos botánicos* 1: 6-17
- GONZÁLEZ, A. M. & CRISTÓBAL, C. L. (1997). Anatomía y ontogenia de *Helicteres lhostzkyana* (Sterculiaceae). *Bonplandia* 9: 287-294. <https://doi.org/10.30972/bon.93-41497>
- GUITTONNY-PHILIPPE, A., PETIT, M. E., MASOTTI, V., MONNIER Y., MALLERET, L., COULOMB, B. & LAFFONT-SCHWOB, I. (2015). Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminantmixtures. *Journal of Environmental Management* 147: 108-123.
- HAMED, K. A., HASSAN, S. A., MOHAMED, A. & HOSNEY, N. K. (2014). Morphological and anatomical study on Plantaginaceae Juss. and some related taxa of Scrophulariaceae Juss. *Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany)* 10: 135-146.
- JACKSON, M. B. & ARMSTRONG, J. (1999). Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biology* 1: 274-287. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1999.tb00253.x>
- JUNG, J., LEE, S. C. & CHOI, H. K. (2008). Anatomical patterns of aerenchyma in aquatic and wetland plants. *Journal of Plant Biology* 51: 428-439. <https://doi.org/10.1007/BF03036065>
- KHANDARE, R. V., KABRA, A. N., KURADE, M. B. & GOVINDWAR, S. P. (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: 6774-6777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.094>
- KRÄHMER, H. (2016). Aerenchyma within the stem. *Atlas of weed mapping*, pp. 194-214. <https://doi.org/10.1002/9781118720691.ch26>

- LACOUL, P. & FREEDMAN, B. (2006). Relationships between aquatic plants and environmental factors along a steep Himalayan altitudinal gradient. *Aquatic Botany* 84: 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2005.06.011>
- 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. *Journal of Plant Biology* 50: 496-503. <https://doi.org/10.1007/BF03030689>
- LERSTEN, N. R. & GUNNING, J. L. (1975). Development of air passages, and crystal distribution, in the stem of *Bacopa caroliniana* (Scrophulariaceae). *Proceedings of the Iowa Academy of Science* 82: 109-112.
- LERSTEN, N. R., & CURTIS, J. D. (1997). Anatomy and distribution of foliar idioblasts in *Scrophularia* and *Verbascum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* 84: 1638-1645. <https://doi.org/10.2307/2446461>
- LERSTEN, N. R., & CURTIS, J. D. (2001). Idioblasts and other unusual internal foliar secretory structures in Scrophulariaceae. *Plant Systematics and Evolution* 227: 63-73. <https://doi.org/10.1007/s006060170057>
- LUQUE, R., DE SOUSA, H. & KRAUS, J. E. (1996). Métodos de coloração de Roeser (1972)- modificado- e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. *Acta Botanica Brasilica* 10: 199-212. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061996000200001>
- MATHUR, A., VERMA, S. K., PUROHIT, R., SINGH, S. K., MATHUR, D., PRASAD, G. B. K. S. & DUA, V. K. (2010). Pharmacological investigation of *Bacopa monnieri* on the basis of antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2: 191-198.
- METCALFE, C. R. & CHALK, L. (1979). *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject*, 2nd Ed., Vol. 1. Clarendon Press, Oxford.
- MICHENER, D. C. (1983). Systematic and ecological wood anatomy of Californian Scrophulariaceae. I. *Antirrhinum*, *Castilleja*, *Galvezia*, and *Mimulus* Sect. *Diplacus*. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany* 10: 9. <https://doi.org/10.5642/aliso.19831003.09>
- NAPALDET, J. T., BUOT, J. R., ZAFARALLA, M. T., LIT, J. R. & SOTTO, R. C. (2019). Effect of phytoremediation on the morpho-anatomical characters of some aquatic macrophytes. *Biodiversitas* 20: 1289-1302. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200519>
- NEIFF, J. J. (2004). *El Iberá... ¿en peligro?* Fundación Vida Silvestre Argentina, 1a. ed., Buenos Aires.
- NUGRAHA, I., YUNITA, R., LESTARI, E. G. & ARDI, I. (2017). Pembentukan mother plant *Bacopa australis* secara in-vitro dan aklimatisasi dalam aquascape air tawar. *Media Akuakultur* 12: 85-94.
- O'HARE, M. T., AGUIAR, F. C., ASAEDA, T., BAKKER, E. S. & WOOD, K. A. (2018). Plants in aquatic ecosystems: current trends and future directions. *Hydrobiologia* 812: 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3190-7>
- OLARANONT, Y., STEWART, A. B. & TRAIPEM, P. (2020). Effects of crude oil on plant growth and leaf anatomical structures in a common coastal plant. *International Journal of Phytoremediation* 23: 162-170. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1803203>
- OSKOLSKI, A., VUZA, N., & SHIPUNOV, A. (2021). Stem and leaf anatomy of *Aragoa* (Plantaginaceae): In search of lost rays. *Plants* 10: 1773. <https://doi.org/10.3390/plants10091773>
- POLVI, L. E. & SARNEEL, J. M. (2018). Ecosystem engineers in rivers: an introduction to how and where organisms create positive biogeomorphic feedbacks. *Wiley Interdisciplinary Reviews Water* 5: e1271. <https://doi.org/10.1002/wat2.1271>
- POTT, V. J. & POTT, A. (1997). Checklist das macrófitas aquáticas do Pantanal, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 11: 215-227. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061997000200010>
- POTT, V. J. & POTT, A. (2000). Plantas aquáticas do Pantanal. Embrapa Comunicação, Brasília.
- POTT, V. J., BUENO, N. C., PEREIRA, R. A., SALIS, S. M. D. & VIEIRA, N. L. (1989). Distribuição de macrófitas aquáticas numa lagoa na fazenda Nhumirim, Nhecolândia, Pantanal, MS. *Acta Botanica Brasilica* 3: 153-168. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061989000300015>
- POTT, V. J., POTT, A., LIMA, L. C. P., MOREIRA, S. N. & OLIVEIRA, K. M. (2011). Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin. *Brazilian Journal of Biology* 71 (1 supp.): 255-263. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000200004>
- RASBAND, W. S. (1997). *ImageJ*. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.
- SABINO, J. H. F., ARAÚJO, E. S., COTARELLI, V. M., SIQUEIRA-FILHO, J. A. & CAMPELO, M. J. A. (2015). Riqueza, composição florística, estrutura e formas biológicas de macrófitas aquáticas em reservatórios do semiárido nordestino, Brasil. *Natureza online* 13: 184-194.

- SANDULESCU, E. B., SCĂȚEANU, G. V., Șchiopu, T., OLTENACU, N. & STAVRESCU-BEDIVAN, M. M. (2016). Morpho-anatomy and adaptation to some romanian aquatic environments of *Nymphoides peltata* (Gmel.) O. Kuntze (Asterales: Menyanthaceae). *Agronomy* 59: 537-542.
- SCHYMANSKI, S. J. & BREITENSTEIN, 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. <https://doi.org/10.5194/hess-21-3377-2017>
- SCHWEINGRUBER, F. H., KUČEROVÁ, A., ADAMEC, L. & DOLEŽAL, J. (2020). Anatomic atlas of aquatic and wetland plant stems, pp. 187-198. Springer: Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-33420-8_43
- SCULTHORPE, C. D. (1967). The biology of aquatic vascular plants. Edward Arnold Publ., London.
- SEAGO, JR., J. L. (2020). Revisiting the occurrence and evidence of endodermis in angiosperm shoots. *Flora* 273: 151709. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151709>
- SEMCHENCHEN, T. R. (2004). Morfo-anatomia dos órgãos vegetativos de *Bacopa myriophylloides* (Benth.) Wettst. (Scrophulariaceae) crescendo em solo alagado e não alagado. Monografia. Universidade Federal do Paraná: 1-39.
- SHALINI, V. T., NEELAKANTA, S. J., & SRIRANJINI, J. S. (2021). Neuroprotection with *Bacopa monnieri*-A review of experimental evidence. *Molecular Biology Reports* 48: 2653-2668. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06236-w>
- 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: 9349-9363. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07430-x>
- SOSA, M. M. (2005). Anatomía foliar y caulinar en especies de *Stemodia* (Scrophulariaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40: 61-71.
- SOSA, M. M. (2008). Anatomía foliar y caulinar de *Stemodia hassleriana* (Scrophulariaceae), una especie endémica del Paraguay. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 43: 255-259.
- SOSA, M. M., FLORENTÍN, J. E. & SCATIGNA., A. V. (2021). Sinopsis de las especies del género *Bacopa* (Plantaginaceae, Gratioleae) de Paraguay y sus estados de conservación. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 56: 217-242. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v56.n2.30943>
- SOSA, M. M., MORONI, P. & O'LEARY, N. (2018a). *Bacopa*. En O'LEARY, N. (coord.) Plantaginaceae. Flora Argentina, Dicotyledoneae: Lamiales 20: 346-355.
- SOSA, M. M., O'LEARY, N. & MORONI, P. (2018b). Taxonomic revision of genus *Bacopa* (Plantaginaceae) in Argentina. *Phytotaxa* 336: 1-27. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.336.1.1>
- SOUZA, V. C. & GIULIETTI, A. M. (2009). Levantamento das espécies de Scrophulariaceae sensu lato nativas do Brasil. *Pesquisas Botânica* 60: 7-288.
- STACE, C. A. (1966). The use of epidermal characters in phylogenetic considerations. *New Phytologist* 65: 304- 318. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1966.tb06366.x>
- SUDHAKARAN, M. V. (2020). Botanical pharmacognosy of *Bacopa monnieri* (Linn.) Pennell. *Pharmacognosy Journal* 12: 1559-72. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.214>
- TATTINI, M., E. GRAVANO, P. PINELLI, MULINACCI, N. & ROMANI, A. (2000). Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytologist* 148: 69-77. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00743.x>
- 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. <https://doi.org/10.4322/actalb.02202011>
- VARSHNEY, A., NARESH, C. & AVINASH, P. (2017). Anatomical markers and phytochemical study of different plant parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *International Journal of Life Sciences* 5: 379-386.
- VISSER, E. J. & BÖGEMANN, G. M. (2003). Measurement of porosity in very small samples of plant tissue. *Plant and Soil* 253: 81-90.
- WERKER, E. (2000). Trichome diversity and development. *Advances Botanical Research* 3: 1-35. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(00\)31005-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(00)31005-9)
- WOOD, B. & MCATAMNEY, C. (1994). The use of macrophytes in bioremediation. *Biotechnology Advances* 12: 653-662. [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(94\)90006-X](https://doi.org/10.1016/0734-9750(94)90006-X)
- 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* 169: 319-326. <https://doi.org/10.1080/23818107.2022.2052183>

