

PROPAGACION VEGETATIVA DE *Phyllanthus sellowianus* MULLER ARG. ARBOL HISTORICO.

VEGETATIVE PROPAGATION OF *Phyllanthus sellowianus* MULLER ARG. HISTORIC TREE.

Fecha de recepción: 12/03/2018 // Fecha de aceptación: 13/06/2018

Duarte Evelyn

Becaria Posdoctoral
CONICET-CEDIT; Docentes
FCF-UNaM
evelynduarte1982@gmail.com

Thalmayr Peggy Noemi

Becaria de Iniciación CEDIT-
Adscripta a docencia FCF-
UNaM

Rocha Sandra Patricia

Küppers Guillermo Federico

Niella Fernando Omar

Docentes FCF-UNaM

RESUMEN

El árbol histórico Sarandí Blanco (*Phyllanthus sellowianus*) es una especie de la familia Phyllanthaceae que posee propiedades medicinales. Este arbusto fue declarado como "Árbol Histórico" por el Congreso de la Nación Argentina debido a que el general Manuel Belgrano descansó bajo su sombra en su paso por la provincia de Misiones antes de cruzar el río Paraná rumbo a Paraguay en diciembre de 1810. Dada la importancia cultural que posee este ejemplar de *P. sellowianus* para los argentinos, es que se propone realizar un protocolo de propagación vegetativa a fin de preservarlo para las futuras generaciones. Para lograr el objetivo se emplearon brotes de clones del Sarandí ubicados en la ciudad de Candelaria (Misiones), los que se seccionaron en estacas de 10 cm. Las estacas fueron sometidas a una solución fúngica de 20 g/L y a diferentes concentraciones (0, 10 y 50 ppm) de ácido indolbutírico (AIB). Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento sin hormonas enraizantes, donde el 82 ± 5% de las estacas enraizó. Este trabajo ha demostrado que *P. sellowianus* tiene la capacidad de enraizar sin hormonas y que la exposición de las estacas en agua facilita el enraizamiento.

Palabras claves: Phyllanthaceae, Sarandí blanco, estacas, rizogénesis adventicia.

SUMMARY

The historic Sarandí Blanco tree (*Phyllanthus sellowianus*) is a species of the Phyllanthaceae family that possesses medicinal properties. This shrub was declared a "Historic Tree" by the Congress of Argentina because General Manuel Belgrano rested under its shade on his passage through the province of Misiones before crossing the Paraná River towards Paraguay in December 1810. Given the cultural importance of this specimen of *P. sellowianus* for the Argentine, it is proposed to establish a vegetative propagation protocol in order to preserve it for future generations. To achieve this aim, shoots of Sarandí clones located in the city of Candelaria (Misiones) were used, which were cut into 10 cm cuttings. The cuttings were subjected to a fungal solution of 20 g/L and different concentrations (0, 10 and 50 ppm) of indolbutyric acid (IBA). The best results were obtained in treatment without rooting hormones, where 82 ± 5% of the stakes were rooted. This work has shown that *P. sellowianus* has the ability to root without hormones and that exposure of the cuttings to water facilitates rooting.

Key words: Phyllanthaceae, Sarandí blanco, estacas, rizogénesis adventicia.

INTRODUCCIÓN

Phyllanthus sellowianus Muller Arg. conocido como Sarandí blanco, es una especie de la familia Phyllanthaceae. Se trata de un arbustohidrófilo de 2 a 7 metros de altura que crece en las regiones templadas y húmedas de la Argentina (BUSZNIEZ *et al.*, 2017). El Sarandí se desarrolla de forma espontánea en las áreas próximas a los cursos de agua y resulta potencialmente apto para la recomposición vegetativa de márgenes de cursos de agua (SUTILI *et al.*, 2004; MACHADO *et al.*, 2017) y para la protección de los suelos contra la erosión (RAUCH *et al.*, 2009). Las especies del género *Phyllanthus* poseen potenciales beneficios terapéuticos en el tratamiento de la hepatitis B, cálculos renales y en desordenes dolorosos. Las infusiones de sus hojas, tallo y raíces son muy utilizadas en Brasil y otros países para el tratamiento de muchas enfermedades (CALIXTO *et al.*, 1998). Además, el Sarandí es ampliamente usado en medicina popular como hipoglucemiante y diurético. Estudios realizados permiten certificar y avalar el uso etnomédico de esta planta medicinal (NAVARRO *et al.*, 2004).

A su vez el ejemplar de Sarandí ubicado en el departamento de Candelaria (Misiones) posee una importancia histórica ya que en el año 2000 el Honorable Congreso de la Nación Argentina promulgó la ley N° 25.383 que lo declara como “Árbol Histórico” y dispone que se generen las medidas necesarias para su conservación. Este arbusto sirvió como sitio de descanso para el General Manuel Belgrano en su paso al Paraguay. Antes de cruzar el río Paraná el General Belgrano estableció su cuartel en Candelaria y al pie del ejemplar de Sarandí ató su caballo y estableció su tienda de campaña (RAAB, 1928).

Un método clásico y eficiente para propagar especies medicinales es la propagación vegetativa por medio de estacasya que permite obtener nuevos individuos con determinadas características deseables (plantas con mayor producción de semillas, mayor rendimiento de hojas, de aceites esenciales, entre otros a partir de individuos silvestres selectos (BOTREL *et al.*, 2014). Es una técnica simple y de bajo costo que facilita la obtención de un gran número de individuos a partir de unos pocas plantas matrices, no se requieren de grandes espacios, no se necesita de entrenamiento especializado como la micropropagación, y además, garantiza una rápida reproducción de caracteres de la planta madre (HARTMANN *et al.*, 2011; BALDINI 1992).

La propagación vegetativa en *P. sellowianus* ya ha sido estudiada por otros autores, dada las ventajas que presenta esta técnica para la producción de plantas (HNATYSZYN *et al.*, 1999; RAUCH *et al.*, 2009; SOARES MONTERIRO *et al.*, 2010; SUTILI *et al.*, 2018).

El objetivo del presente trabajo es optimizar la metodología de propagación vegetativa basados en estudios anteriores de la especie, con la finalidad de

poder multiplicar el ejemplar histórico de Sarandí blanco ubicado en el departamento de Candelaria, Misiones, y de esta manera conservarlo y poder reintroducir un nuevo ejemplar en el lugar en que se encontraba el árbol originalmente, como así también en el futuro poder contar con clones del Sarandí histórico para que cada escuela de la provincia de Misiones pueda plantarlo en su patio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado en el estudio, consistió en brotes apicales leñosos con ápices semi-leñoso a herbáceos de 40 a 60 cm de largo, provenientes de dos clones de 14 años de edad de Sarandí blanco (conocido como árbol histórico Fig. 1 A). La cosecha se llevó a cabo en junio de 2016 en el departamento de Candelaria (27° 27' S 55° 44' O), Misiones. De estos brotes se obtuvieron estacas de 10 cm de longitud, a las que se le cortaron sus hojas a la mitad. Las estacas fueron sometidas a tratamientos inductivos, que consistieron en sumergir las bases de las estacas en diferentes dosis (0, 10 y 50 ppm) de ácido indolbutírico (AIB), durante 24 horas y luego en solución de fungicida (Zineb®) en una dosis de 20 g/L, durante 20 minutos. Las estacas fueron colocadas en bandejas HIKO® con cavidades de 93 cm³ cada una, las cuales contenían como sustrato una mezcla de corteza de pino compostada y perlita (3:1).

Las bandejas con las estacas permanecieron en un invernáculo con riego por microaspersión, durante 60 días, transcurrido ese periodo se procedió a la evaluación. Las variables que se consideraron fueron porcentaje de sobrevivencia, porcentaje de enraizamiento, longitud de las raíces y número de raíces por estaca.

El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado (DCA) con 22 repeticiones distribuidas en 2 bandejas por tratamiento, considerando como unidad experimental la estaca. El análisis estadístico de los datos (ANOVA y posteriormente Tukey) se realizó con el software estadístico INFOSSTAT versión 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis estadístico manifestaron diferencias significativas entre los tratamientos, observándose que el mejor tratamiento fue el control (0 ppm de AIB). Cuando las estacas fueron inducidas únicamente con agua, el porcentaje de sobrevivencia fue del 100% y de enraizamiento del 82 ± 5% (Tabla 1).

Las variables, número de raíces por estaca y longitud promedio de la raíz fueron evaluadas únicamente para el tratamiento 1 (Fig. 1 B), ya que los tratamientos 2 y 3 no presentaron sobrevivencia ni enraizamiento de estacas. El número de raíces promedio

por estaca fue de $11,67 \pm 6,02$; con un máximo de 18 raíces y un mínimo de 6. La longitud promedio de las raíces fue de $8,33 \pm 2,08$ cm con un máximo de 10 cm y mínimo de 6 cm (Fig. 1 C).

Es importante destacar que las estacas con un diámetro inferior a 5 mm no enraizaron. A su vez, las estacas más herbáceas y juveniles no sobrevivieron, lo que demuestra que cuanto más lignificadas se encuentran las estacas se incrementa la posibilidad de enraizar, pudiendo obtenerse plantas que después de 18 meses superan el metro de altura (Fig. 1 D).

En este trabajo se observó que la utilización de la auxina AIB en las concentraciones evaluadas no indujo el enraizamiento de las estacas de *P. sellowianus*, tal como lo observaron HNATYSZYN *et al.*, (1999), quienes además concluyeron que la cantidad de estacas enraizadas de esta especie disminuye a medida que la concentración de AIB o ANA (ácido naftalenacético) aumenta. Sin embargo, estos autores lograron un porcentaje de enraizamiento del 60% en las estacas del tratamiento control (sin axinas) y en las que fueron

tratadas con una concentración de 1 ppm de AIB. Por otro lado, SUTILI *et al.*, (2004) observaron porcentajes de enraizamiento del 78% en estacas de *P. sellowianus* establecidas directamente en el suelo cerca de márgenes de arroyos sin la utilización de fitohormona. Así mismo, estos autores destacan que cuanto mayor sea el diámetro de las estacas utilizadas mayor es el porcentaje de sobrevivencia y enraizamiento, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio. Este proceso de rizogénesis adventicia en ausencia de hormonas enraizantes también fue observado en otras especies de la Selva Paranaense tales como *Peltoporum dubium* y *Myrocarpus frondosus* (NIELLA *et al.*, 2014).

Los resultados de este trabajo corroboran que *P. sellowianus* tiene la capacidad de generar raíces adventicias aún en estacas lignificadas y con solo una inducción en agua. Esta metodología permitió obtener varios individuos de Sarandí Histórico, lo cual habilitó la posibilidad de reintroducir un ejemplar en la costanera de la ciudad de Candelaria, Misiones, donde estaba localizado el árbol histórico.

Tabla 1: Efecto de los tratamientos inductivos sobre el porcentaje de sobrevivencia y enraizamiento *ex vitro* en estacas de *Phyllanthus sellowianus*.

Table 1: Effect of inductive treatments on the percentage of survival and rooting *ex vitro* in cuttings of *Phyllanthus sellowianus*

Tratamiento	N	% Sobrevivencia ± EE	% Enraizamiento ± EE
Tratamiento 1 Agua	22	100 a	82 ± 5 a
Tratamiento 2 10 ppm AIB	22	0 b	0 b
Tratamiento 3 50 ppm AIB	22	0 b	0 b

Promedio de los tratamientos con letras iguales no son significativamente diferentes ($\alpha > 0,05$)



Figura 1: Propagación vegetativa de *P. sellowianus*. A) Clon de Sarandí histórico plantado en la escuela Bachillerato Polivalente No. 5, Juan M de Pueyrredón. B-C) Estacas con raíces y brotes después de 2 meses. D) Plantas de sarandí de 18 meses de edad con alturas de más de 1 m. La barra indica 15 cm en A, 1 cm en B-C y 5 cm en D.

Figure 1: Vegetative propagation of *P. sellowianus*. A) Historic Sarandí clone planted in the Polyvalent High School No. 5, Juan M de Pueyrredón. B-C) Cutting with roots and shoots after 2 months. D) Sarandí plants of 18 months of age with heights of more than 1 m. The bar indicates 15 cm in A, 1 cm in B-C and 5 cm in D.

CONCLUSIONES

El presente estudio demostró que estacas lignificadas de clones de 14 años de edad de *P. sellowianus* tienen la capacidad de enraizar sin la necesidad de utilizar reguladores de crecimiento. Por lo que se podrán obtener de manera económica y sencilla ejemplares clonados del histórico árbol que sirvió como sitio de descanso del General Manuel Belgrano en su paso al Paraguay, lo que constituirá una importante vía para la conservación de este valioso ejemplar.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Forestales -UNaM - Ministerio del Agro de la Provincia de Misiones por el financiamiento otorgado para poder realizar el estudio. Al intendente de Candelaria Daniel Lunay la directora de la escuela Bachillerato Polivalente No. 5, Juan M de Pueyrredón, quienes fueron los que donaron los brotes de los clones del Sarandí Histórico. Al Ing. Jaime Ledesma, asesor del Ministerio del Agro de la Provincia de Misiones, por las gestiones para que este trabajo pueda llevarse adelante.

BIBLIOGRAFÍA

- BALDINI E. 1992. Arboricultura General. Mundi-Prensa. España. 380 pp.
- BOTREL, P. P.; Batista, J. A.; Figueiredo, F. C. 2014. Efeito do extrato de tiririca e bioestimulante no enraizamento de estacas de *Hyptis marrubioides* Epl. Revista Agrogeoambiental, 7(2), pp 91-99.
- BUSZNIEZ, P.; Mascaro, H.; Delannoy, M.; Di Sapio, O.; Riquelme, B. 2017 Caracterización fisicoquímica, óptica y reológica de soluciones extractivas de *Phyllanthus sellowianus* y *Bauhinia forficata*. Anales (Asociación Física Argentina). 28(2), pp 66-69.
- CALIXTO, J. B.; Santos, A. R.; Filho, V. C.; Yunes, R. A. 1998. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. Medicinal research reviews 18(4), pp225-258.

DI RIENZO J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar//>

HARTMANN, H. T.; Kester, D. E.; Davies Junior, F. T. 2011.. Plant propagation: Principles and Practices 8 th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. 869 pp.

HNATYSZYN, O.; Ferraro, G.; Rivas, C.; Abedini, W. 1999. *Phyllanthus sellowianus*: Compounds present in different ontogenic stages. WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 1: Biological Resources, Sustainable Use, Conservation and Ethnobotany 500, pp 129-136.

LEY 25.383. 2000. Árboles históricos. Declárase al ejemplar de Sarandí blanco ubicado en Candelaria, Provincia de Misiones, que sirviera como sitio de descanso al General Manuel Belgrano en su paso al Paraguay.

MACHADO, L. M.; Magistrali, I. C.; Araldi, D. B. Comparação das características biotécnicas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., *Salix humboldtiana* Willd., e *Salix x rubens* Shrank. 2017. *Ciência Florestal* 27 (2), pp 635-641.

NAVARRO, M.; Coussio, J.; Hnatyszyn, O.; Ferraro, G. 2004. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Phyllanthus sellowianus* ("Sarandí blanco") en ratones C57BL/Ks. *Acta Farm. Bonaerense* 23(4), pp 520-523.

NIELLA, F.; Rocha, P.; Eibl, B.; Schoffen, C.; Martinez, M.; Conti, P.; Franco, M.; Ayala, L. 2014. Propagación clonal de *Peltophorum dubium* (Caña fistola), *Myrocarpus frondosus* (Incienso), y *Cordia trichotoma* (Peteribi) para su conservación y domesticación. *Yvyrareta* 21, pp.44-50.

RAAB, I. T. 1928. Algunos árboles Históricos. In *El monitor de la educación común*, Consejo Nacional de Educación. Buenos Aires, pp. 531-534.

RAUCH, H. P.; Sutili, F. J.; Aschbacher, M.; Müller, B. 2009. The role of the implementation angle of cuttings of *Phyllanthus sellowianus* as a reference for a soil protection measure against surface erosion. EGU General Assembly Conference Abstracts. 11.

SOARES MONTEIRO, J., Benetti Leite, M., Wink, C., Antão Durlo, M. 2010. Influência do ângulo de plantio sobre a brotação e o enraizamento de estacas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. *Ciência Florestal*, 20(3), pp.523-532.

SUTILI F. J.; Durlo Antão, M.; Bressan, D. 2004. Potencial biotécnico do Sarandi-branco (*Phyllanthus sellowianus* Müll. Arg.) e Vime (*Salix viminalis* L.) para revegetação de margens de cursos de água. *Ciência Florestal* 14, pp 13–20.

SUTILI, F. J., Da Silva Dorneles, R., Ottes Vargas, C., Wolf F Kettenhuber, P. L. 2018. Avaliação da propagação vegetativa de espécies utilizadas na estabilização de obras de terra com técnicas de engenharia natural. *Ciência Florestal*. 28(1), pp 1-12.