

Propagación y Descripción Morfo-Anatómica de Salvia Chilena (*Lepechinia chamaedryoides*)

[Propagation and morpho-anatomical description of chilean salvia (*Lepechinia chamaedryoides*)]

Humberto SERRI¹, Angélica URBINA¹, Adoración CABRERA², Teresa MILLÁN², Edgar PASTENE³ & José RUBILAR¹

¹Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chile

²Universidad de Córdoba, España

³Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile

Contactos | Contacts: Humberto SERRI - E-mail address: hserri@udec.cl

Abstract

The aim of this work was to identify an effective method to improve the rate and percentage of germination and the rooting of seeds and cuttings of *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling. Morphological changes experienced by the seed during the germination process also were followed by microscopy. This research was conducted during 2009 and 2010 in the Faculty of Agronomy of the University of Concepción. Four germination tests were assayed: a) sulfuric acid scarification and further stratification, b) leaching of inhibitors with different water temperatures plus different concentrations of gibberellic acid, c) thermal scarification plus stratification and d) gibberellic acid application at different concentrations. The highest percentage of germination was obtained with thermal scarification and stratification. Vegetative propagation test consisted of different concentrations of indole butyric acid (IBA) applied to the stem base. Significant differences between treatments were not found. The morphological changes of the seed during the germination process were observed by scanning electron microscope (SEM). These findings allowed identifying characteristics of highly lignified pericarp.

Keywords:

Resumen

Con el propósito de identificar un método efectivo para obtener un alto porcentaje de germinación y enraizamiento en semillas y estacas de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling y observar los cambios morfológicos que experimenta la semilla durante el proceso de germinación, se realizó esta investigación durante el año 2009 y 2010 en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción. Se efectuaron cuatro ensayos de germinación: a) escarificación con ácido sulfúrico y estratificación, b) lixiviación de inhibidores con agua a diferentes temperaturas más concentraciones de ácido giberélico, c) escarificación térmica más estratificación y d) aplicación de ácido giberélico, en diferentes concentraciones. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo con el tratamiento de escarificación térmica y estratificación. Con respecto a la propagación vegetativa, se realizaron ensayos con diferentes concentraciones de ácido indolbutírico (IBA) aplicado a la base de las estacas, no observándose diferencias significativas entre tratamientos. Los cambios morfológicos de la semilla durante el proceso de germinación se observaron mediante Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) lo que permitió identificar características anatómicas y estructurales de un pericarpio altamente lignificado.

Palabras Clave: *Lepechinia. chamaedryoides*, germinación, dormancia, escarificación, estratificación.

Recibido | Received: 5 de Agosto de 2011.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 2 de Septiembre de 2011.

Publicado en línea | Published online: 30 de Noviembre de 2011.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Humberto Serri, Angélica Urbina, Adoración Cabrera, Teresa Millán, Edgar Pastene, José Rubilar. 2011. Propagación y Descripción Morfo-Anatómica de Salvia Chilena (*Lepechinia chamaedryoides*). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 10(6): 507 – 524.

INTRODUCCIÓN

La flora nativa de Chile destaca por su gran riqueza botánica con géneros y especies muy particulares, los que se desarrollaron durante la evolución sin mucho intercambio de material genético con sus parientes, debido al aislamiento geográfico del país (Vogel, 2000). Esta flora representa un recurso genético importante, con un alto porcentaje de endemismo de especies y géneros (Massardo y Rozzi, 1996).

Lepechinia chamaedryoides, es conocida vulgarmente como salvia (Hoffmann *et al.*, 1992), lahuén lahuén (Urbina *et al.*, 1998) o como alhuelahuén, pertenece a la familia de las Labiadas y al género *Lepechinia*. Se trata de una familia amplia y cosmopolita (Hoffmann *et al.*, 1992), constituida por hierbas, rara vez por arbustos o árboles (Niembro, 1989). *L. chamaedryoides* es endémica de Chile (Stark, 2009), crece en cerros asoleados de la zona costera entre la V y la X Región en suelos pedregosos, con buen drenaje pero con algo de humedad. Es un arbusto ramoso, perenne y redondeado, de crecimiento muy rápido, de hasta 2 m de alto por 1.80 m de diámetro. El follaje es bastante denso, las hojas tienen un tono verde-ceniciento (Riedemann y Aldunate, 2004), de 1.5 - 4 cm de largo por 0.5 - 1 cm de ancho (Peña *et al.*, 2000), de forma oblongo-elípticas, ápice redondeado y base atenuada, opuestas y decusadas, rugosas y pubescentes, con bordes suavemente crenados, nervadura reticulada y muy notoria (Stark, 2009). Las flores son de unos 2 cm de largo y se disponen en verticilos como en todas las especies de la familia Labiadas, cada uno de los cuales presenta de 4 a 6 flores. Las flores aparecen durante la primavera y comienzos del verano y presentan un color celestegrisáceo (Montenegro, 2002; Riedemann y Aldunate, 2004). El cáliz es tubular de 5 sépalos y la corola es bilabiada (Montenegro, 2002) compuesta por 5 pétalos fusionados. El fruto es una núcula que madura al final del verano y contiene una pequeña semilla negra (Riedemann y Aldunate, 2004).

La planta evidencia la presencia de tricomas glandulares, tanto en superficie superior como inferior. Además, en la superficie abaxial existen tricomas dendroides que contribuyen a evitar la pérdida de agua y otros elementos (Urbina *et al.*, 1998).

Esta planta chilena es usada en la medicina popular para tratar enfermedades infecciosas, desórdenes menstruales y enfermedades inflamatorias (Pastene *et al.*, 2005). También destaca, según Hoffmann *et al.* (1992) y Sepúlveda *et al.* (1998) su uso como cicatrizante y en fricciones en caso de

parálisis. Areche *et al.* (2009), señalan que carnosol, que es el principal diterpeno de esta planta, administrado a ratones en dosis de 5, 10 y 20 mg/kg redujo las lesiones gástricas en un 49, 63 y 70% respectivamente, mientras que la referencia constituida por lansoprazol los redujo en 64,5% en dosis de 20 mg/kg. También encontraron que la mayor parte de los diterpenos de *L. chamaedryoides* eran más citotóxicos que carnosol y lansoprazol.

Químicamente, la planta contiene 0.25% de aceite esencial en el cual se identificaron 65 compuestos, siendo el β -felandreno (13%), β -cariofileno (10,3%), τ -cadinol (10,4%), espatulenol (6,4%), limoneno (6%) y cadineno (5,9%) los componentes principales (Valenzuela *et al.*, 1992). Entre los compuestos no volátiles presentes, han sido identificados los triterpenos ácido ursólico y ácido betulínico. También se ha aislado la horminona, una diterpenquinona que se encuentra en varias especies de la familia Lamiaceae, cuya actividad citotóxica y antibacteriana ha sido descrita en otros trabajos (Valenzuela *et al.*, 1992; Pastene *et al.*, 2005). Silva (1968) aisló ácido betulínico de *Lepechinia chamaedryoides* colectada en verano y ácido ursólico de plantas colectadas en primavera. Por otra parte, en un estudio realizado por Areche *et al.* (2009), del follaje de esta planta se obtuvo 5 compuestos fenólicos y 5 diterpenquinonas delabietano, además del sesquiterpeno espatulenol y 2 flavonoides.

La germinación de esta especie comienza con la imbibición de agua por parte de la semilla y culmina con la emergencia de la plántula a través de las cubiertas (Azcon-Bieto y Talón, 1993; Bewley y Black, 1994). Sin embargo, algunas no germinan hasta pasado un tiempo, incluso disponiendo de las condiciones ambientales favorables, ya que experimentan un período de dormancia (Meyer *et al.*, 1960; Baldini, 1992). La dormancia en las semillas se puede deber a varios factores. Hartmann y Kester (1987), Hess (1980) y Meyer *et al.* (1960), señalan factores como: impermeabilidad de la cubierta seminal a los gases y agua, cubiertas de semillas duras y presencia de inhibidores de la germinación. Hartmann y Kester (1987) señalan diversos tratamientos para superar el letargo de las semillas, como escarificación mecánica con agua caliente y con ácido, estratificación de la semilla a bajas temperaturas, lixiviación de inhibidores, o combinación de los anteriores. También señalan tratamientos para facilitar la germinación, como son el uso de hormonas y otros estimulantes químicos como giberelinas. Cualquiera de los

tratamientos anteriores sirve para superar letargos mecánicos, por presencia de pericarpios lignificados. *L. chamaedryoides*, también se puede propagar mediante reproducción asexual o vegetativa. Según Baldini (1992) y Felipe (1999) a partir de porciones de plantas se obtienen descendencia homogénea desde el punto de vista genético e idénticas a la planta de la que se ha tomado el material de propagación. La regeneración por estacas es el medio de propagación más utilizado e importante para muchas especies agrícolas y ornamentales (Hartmann *et al.*, 1990; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Existen distintos tratamientos a los que se pueden someter las estacas de tallo con el fin de aumentar la capacidad de formar raíces. Uno de los más recomendados es el uso de reguladores de crecimiento para estimular la diferenciación de raíces adventicias. Sin embargo, este tratamiento puede sólo aumentar la capacidad rizógena, pero no puede crearla. Entre los reguladores de crecimiento el más utilizado es el ácido indolbutírico ya que no es tóxico en un amplio rango de concentraciones para un gran número de especies (Baldini, 1992). Según señala Muñoz y Solanes (1983) las concentraciones óptimas del IBA para promover enraizamiento varían entre 1000 y 2000 mg L⁻¹.

Los objetivos de esta investigación, fueron determinar el tratamiento más efectivo para promover la germinación de semillas de *L. chamaedryoides*,

evaluar el efecto de la aplicación del IBA en el enraizamiento de estacas y formación de callos, y describir los cambios morfológicos de la semilla en el transcurso del proceso de germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, durante el año 2009 - 2010.

Las núculas de *Lepchinia chamaedryoides* se colectaron en la comuna de Hualqui, Provincia de Concepción, Región del Bío - Bío, la primera semana de abril del año 2009, y la recolección del material vegetativo se realizó en el mismo sector, los primeros días de octubre del mismo año.

Germinación

Las núculas recolectadas se guardaron en bolsas de papel para la posterior realización de los ensayos. Previamente se limpiaron y desinfectaron con fungicida (Benlate 0.7 g + Captan 1.5 g en 1 litro de agua). Los tratamientos a los que se sometieron las núculas para romper la dormancia de las semillas se describen a continuación:

Ensayo I

Se expusieron 1200 núculas de *L. chamaedryoides* a distintos tratamientos de escarificación y estratificación (Tabla N° 1).

Tabla N° 1

Tratamientos del ensayo I (A), estratificación más escarificación con ácido sulfúrico (H₂SO₄).

Estratificación (4° C)	Escarificación con H ₂ SO ₄ (mg L ⁻¹)			
	0 min	10 min	20 min	30 min
0 días	A 1	A 2	A 3	A 4
15 días	A 5	A 6	A 7	A 8
30 días	A 9	A 10	A 11	A 12

La escarificación fue de tipo química y se realizó utilizando ácido sulfúrico al 24.2% por períodos de 0, 10, 20 y 30 min. Para ello las núculas se depositaron en un vaso de precipitado agregándoles el ácido sulfúrico a la concentración antes mencionada, hasta cubrir las totalmente. Posteriormente se lavaron con agua destilada durante un período de 24 h.

Después del lavado, fueron puestas a estratificar

por un período de 0, 15 y 30 días en placas Petri, cubiertas en su interior por papel absorbente húmedo y dentro de una cámara refrigerada a una temperatura de 4° C en condiciones de oscuridad.

Ensayo II

Se tomaron 1200 núculas y fueron sometidas a tratamientos de lixiviación de inhibidores con agua a

diferentes temperaturas y luego se trataron con diferentes concentraciones de ácido giberélico (Tabla N° 2). Las núculas fueron lavadas con agua a 25° C y 50° C, durante 5 min, más un tratamiento sin lavado, para posteriormente ser sumergidas en tres diferentes concentraciones de ácido giberélico. Para esto, las

núculas fueron depositadas en tubos de ensayo con 2 ml de solución de giberelina GA₃ (Sigma), a concentraciones de 250, 500 y 1000 mg L⁻¹, por un período de tiempo aproximado de 24 h, además de un tratamiento testigo sin aplicación de giberelinas.

Tabla N° 2

Tratamientos del ensayo II (B), lixiviación de inhibidores más aplicación de giberelinas.

Lixiviación de inhibidores (agua)	Giberelinas (GA ₃)			
	0 mg L ⁻¹	250 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹	1000 mg L ⁻¹
-	B 1	B 2	B 3	B 4
25° C	B 5	B 6	B 7	B 8
50° C	B 9	B 10	B 11	B 12

Ensayo III

Se expusieron 1200 núculas de *L. chamaedryoides* a diferentes tratamientos de escarificación térmica con agua caliente y estratificación a 0, 15 y 30 días (Tabla N° 3). Para la escarificación las semillas fueron inmersas en agua en un vaso de precipitado a 15, 30, 70 y 100° C respectivamente. A continuación se

retiraron de la fuente de calor y se dejaron en agua durante un tiempo de 24 h.

Transcurridas las 24 h, se estratificaron durante 0, 15 y 30 días en placas Petri, cubiertas en su interior por papel absorbente húmedo y dentro de una cámara refrigerada a una temperatura de 4° C en condiciones de oscuridad.

Tabla N° 3

Tratamientos del ensayo III (C), escarificación térmica con agua más estratificación.

Estratificación (4 °C)	Escarificación Térmica (agua)			
	15° C	30° C	70° C	100° C
0 días	C 1	C 2	C 3	C 4
15 días	C 5	C 6	C 7	C 8
30 días	C 9	C 10	C 11	C 12

Ensayo IV

Se tomaron 1200 núculas y fueron tratadas con ácido giberélico, en concentraciones de 1000, 2500 y 5000 mg L⁻¹, más un tratamiento testigo sin giberelinas (Tabla N° 4). Se mantuvo el mismo procedimiento que el ensayo II.

En los 4 ensayos, las núculas se colocaron en placas Petri de 10 cm de diámetro, con una lámina de papel filtro en una estufa de germinación a 24° C, humedad constante y 12 h alternadas de luz y oscuridad para evaluar la germinación de las semillas.

Se consideró la semilla germinada cuando la radícula emergida alcanzó 1 mm de longitud

Tabla N° 4
Tratamientos del ensayo IV (D), aplicación de giberelinas.

Giberelinas (GA ₃ Sigma)			
0 mg L ⁻¹	1000 mg L ⁻¹	2500 mg L ⁻¹	5000 mg L ⁻¹
D 1	D 2	D 3	D 4

Descripción morfológica de núculas, y cambios observados durante la germinación de la semilla

Las observaciones morfológicas de la semilla en el transcurso del proceso de germinación se realizaron con núculas maduras, fijadas en glutaraldehído y tampón cacodilato de sodio durante un mínimo de 24 h, postfijadas en tetróxido de osmio y sometidas a secado de punto crítico. Este material se montó en portaobjetos y se metalizó con oro-paladio para posteriormente examinarse bajo un Microscopio Electrónico de Barrido, en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Concepción.

Las evaluaciones y los registros se realizaron diariamente desde el día 0.

Propagación vegetativa

Se utilizaron estacas de tallo leñoso de *L. chamaedryoides* recolectadas de plantas en ambiente natural. Se empleó una cámara de protección de 2,4 m × 1,6 m y 4 bandejas de trasplante. El agua fue suministrada de forma manual mediante un pulverizador.

El sustrato utilizado consistió en 2/3 de arena y 1/3 de tierra de hoja, material proveniente de la Universidad de Concepción, Campus Chillán. El sustrato fue esterilizado mediante autoclave a 121° C durante 1 h.

Tabla N° 5
Tratamientos de propagación vegetativa (E), aplicación del IBA.

Ácido indolbutírico (mgL ⁻¹)							
0	125	250	500	750	1.000	2.000	4.000
E 1	E 2	E 3	E 4	E 5	E 6	E 7	E 8

Se prepararon 128 estacas de aproximadamente 8 cm de largo y 0,4 cm de diámetro, y se formaron 8 grupos de 16 estacas, elegidas al azar, estos grupos fueron desinfectados con una solución acuosa al 0.75% (v/v) de hipoclorito de sodio por 5 s. Una vez secas, fueron depositadas en frascos de vidrio, con IBA en diferentes concentraciones, sumergiendo sólo la base del material. De los 8 grupos, los tratamientos del 1 al 5 permanecieron en IBA durante las 12 siguientes h, los otros grupos sólo estuvieron en agua. El día del establecimiento, la base del material de los tratamientos 6 a 8, fue inmersa en las concentraciones de ácido indolbutírico por 5 s para ser transferido en seguida al sustrato de enraizamiento (Tabla N° 5).

Con el propósito de mantener un control preventivo de enfermedades se realizaron pulverizaciones periódicas con una solución acuosa de Benlate 0.7 g + Captan 1.5 g en 1 litro de agua. Los

parámetros evaluados fueron el porcentaje de enraizamiento y la formación de callo.

Diseño experimental y análisis estadístico

Todos los ensayos de germinación se realizaron con diseño completamente aleatorio. Los ensayos I, II y III con 12 tratamientos y 4 repeticiones. La unidad experimental fue de 25 semillas por repetición.

En el ensayo de propagación vegetativa, el diseño experimental fue de bloques completos al azar, con 8 tratamientos y 4 repeticiones, la unidad experimental fue de 4 estacas.

Para determinar diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza no paramétrico propuesto por Kruskal Wallis (1952) y el procedimiento Conover (1999) (citados en Balzarini et al., 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

Ensayo I Escarificación y Estratificación

No se observó diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre los tratamientos mediante el análisis de varianza. El mayor porcentaje de germinación obtenido (2%), fue en el tratamiento con 15 días de estratificación y sin escarificación química con ácido sulfúrico (Tabla N° 6).

El efecto abrasivo del H₂SO₄ sobre la cubierta seminal de diferentes especies, mejora la aireación e hidratación de la semilla, lo que se traduce en una mayor eficiencia del proceso germinativo (Pérez y Martínez-Laborde, 1994). Según Hartmann y Kester (1987) la duración del tratamiento con ácido sulfúrico depende del tipo de semilla, pudiendo variar desde 10 minutos en algunas especies, hasta 6 horas o más en otras, y al tratarse de semillas con tegumentos gruesos, los períodos de tratamientos en estos casos son largos. Para esta especie, los tratamientos son destinados a

escarificar el pericarpio de las núculas. De acuerdo a los resultados podemos deducir que los tiempos destinados a la escarificación posiblemente no fueron suficientes, debido a que el pericarpio de los frutos de *L. chamaedryoides* está formado por una capa de células esclereidas dispuestas en empalizada, constituyendo un factor de latencia importante, dejando en evidencia la impermeabilidad de la semilla. Esto se concluye, ya que las semillas que fueron tratadas con ácido sulfúrico y el control, no presentaron diferencias de volumen, lo que indica que no embebieron agua. La imbibición de agua es un fenómeno físico y puede efectuarse aún en semillas muertas (Hartmann y Kester, 1987; Sivori *et al.*, 1980). También es importante destacar, que la acción escarificante del ácido sulfúrico sobre núculas de la familia Labiatae, varía dependiendo de la especie, esto se fundamenta en estudios realizados por Cabello *et al.* (1998), en núculas de *Lavandula stoechas*, en donde obtuvo 83% de germinación utilizando ácido sulfúrico.

Tabla N° 6

Porcentajes de germinación en ensayo 1: escarificación con ácido sulfúrico y estratificación.

Estratificación (4° C)	Escarificación con H ₂ SO ₄ (mg L ⁻¹)			
	0 min	10 min	20 min	30 min
0 días	0	0	0	0
15 días	2	0	1	1
30 días	0	0	0	0

No se presentan diferencias significativas mediante análisis de varianza (P < 0,05).

Ensayo II Lixiviación:

Al analizar los resultados, se determinó que no existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación, según las diferentes concentraciones de giberelina utilizada para estimular el proceso germinativo, y las distintas temperaturas del agua utilizadas para provocar un lavado de posibles inhibidores presentes en la semilla o en la superficie de la núcula. Los mayores porcentajes de germinación (3%) se obtuvieron para los tratamientos con agua a 15 °C más 250, 500 y 1000 mg L⁻¹ de giberelina, sumado a estos, el tratamiento 7, en el cual se utilizó agua a 25° C más 500 mg L⁻¹ de giberelina (Tabla N° 7).

En algunos casos, las semillas no germinan, aunque se den las condiciones adecuadas (Jensen-Salisbury, 1988; Pérez y Martínez-Laborde, 1994). Según señalan Jensen y Salisbury (1988), una de las principales causas fisiológicas que pueden determinar la dormancia de las semillas, es la presencia de sustancias inhibitoras en diferentes tejidos de la semilla. Los resultados de este ensayo permiten deducir que la dormancia de estas semillas no se debe a la presencia de estos inhibidores en la semilla y pericarpio, ya que no hubo respuesta al tratamiento de lavado con agua a diferentes temperaturas.

Tabla N° 7

Porcentajes de germinación en ensayo 2: lixiviación de inhibidores con agua a diferentes temperaturas y aplicación de giberelina.

Lixiviación de inhibidores (agua)	Giberelinas (GA ₃)			
	0 mg L ⁻¹	250 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹	1000 mg L ⁻¹
-	0	3	3	3
25° C	0	2	3	0
50° C	1	1	1	1

No se presentan diferencias significativas mediante análisis de varianza. ($P < 0,05$).

Barceló *et al.* (2001), señala que los tejidos reproductores contienen mayores cantidades de giberelina, sin embargo, el contenido de la hormona varía en relación con el crecimiento, edad de la planta, floración, desarrollo del fruto, dormancia y germinación. Aparentemente las giberelinas se producen cuando se necesitan, ya que en semillas en germinación hay un aumento brusco al aumentar estas de tamaño. Jensen y Salisbury (1988), indica que las concentraciones de giberelina aumentan durante la primavera en semillas latentes, y es posible que participen en condiciones normales para romper el estado de latencia. Barceló *et al.* (2001) y Sivori *et al.* (1980), señala que la aplicación de giberelinas puede romper el período de dormancia en semillas, ya que puede sustituir tratamientos de estratificación, que es donde aumenta el contenido de giberelinas.

Basándose en los resultados anteriores, se puede determinar que la giberelina no pudo penetrar en la

semilla, debido a la dureza e impermeabilidad del pericarpio, aún cuando se esperaba tener un efecto de escarificación térmica sobre éste, al realizar lixiviación de inhibidores con agua a 50° C.

Ensayo III Escarificación térmica:

El análisis de varianza detectó diferencias ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos de este ensayo. El mayor porcentaje de germinación (65%), se obtuvo con escarificación térmica a 100° C y estratificación por 30 días (Tabla N° 8). El efecto abrasivo de la escarificación térmica, tiene como objetivo, al igual que el ácido sulfúrico, mejorar la permeabilidad de la semilla y de la núcula, en este caso por medio de lesiones físicas provocadas por la temperatura del agua, y facilitar por medio de éstas según Pérez y Martínez-Laborde (1994), el ingreso de agua y el intercambio gaseoso de la semilla, de modo que el embrión pueda iniciar su actividad metabólica.

Tabla N° 8

Porcentajes de germinación en ensayo 3: escarificación térmica y estratificación.

Estratificación (4 °C)	Escarificación Térmica (agua)			
	15° C	30° C	70° C	100° C
0 días	0 a	0 a	0 a	0 a
15 días	0 a	0 a	0 a	0 a
30 días	5 ab	10 b	61 b	65 b

Tratamientos con letras distintas indican diferencias significativas. Test de Conover ($P < 0.05$).

Los tratamientos 11 y 12 que fueron sometidos a escarificación térmica con temperaturas de 70 y 100° C y 30 días de estratificación a 4° C, en completa

oscuridad, presentaron sobre un 60% de germinación. Estos resultados fueron obtenidos al final del período

de estratificación, sin incidir las condiciones de la cámara de germinación.

Los resultados anteriormente mencionados, concuerdan con los obtenidos por Berti *et al.* (2006), quien logró germinar semillas de *Luma apiculata* estratificando durante 30 días sobre arena estéril húmeda a 2° C, la germinación comenzó a los 28 días, durante el período de estratificación, y al cabo de 30 días alcanzó un 80% de germinación.

Estos resultados son coherentes con el hecho de que la testa seminal está cubierta por el pericarpio del fruto, fuertemente lignificado, lo que implica una mayor necesidad de que se favorezca la eliminación de esta estructura para facilitar la germinación.

La luz promueve o inhibe la germinación de semillas en algunas especies. La inhibición de la germinación por la luz se presenta, principalmente, en semillas de especies no domesticadas y de malezas. De este modo, de forma natural, las especies cuentan con un banco permanente de semillas en el suelo que

tiende a garantizar su persistencia en condiciones adversas (Salisbury y Ross, 2000).

Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos, confirmando una posible fotoblastia negativa en semillas de *L. chamaedryoides*. Resultados similares obtuvo Cabello *et al.* (1998), en núculas de *Lavandula stoechas*, familia Labiatae, las cuales no presentaron germinación en condiciones de luminosidad.

La estratificación también juega un papel importante en la germinación, provocando un aumento transitorio del contenido de giberelinas y citocinina, con la consecuente disminución del ácido abscísico, estimulando la germinación.

Todos estos factores en conjunto lograron anticipar el inicio del proceso germinativo.

Ensayo IV Acido Giberélico

Los resultados obtenidos, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos con 0, 1000, 2500 y 5000 mg L⁻¹ de ácido giberélico (Tabla N° 9).

Tabla 9
Porcentajes de germinación en ensayo 4: aplicación de ácido giberélico.

0 mg L ⁻¹	Giberelinas (GA ₃ Sigma)		
	1000 mg L ⁻¹	2500 mg L ⁻¹	5000 mg L ⁻¹
0	0	3	2

Las giberelinas son los reguladores de crecimiento más utilizados para romper la dormición de semillas de numerosas especies vegetales (Pérez y Martínez-Laborde, 1994). Según Azcon-Bieto y Talon, (2008), cuando los niveles de giberelina (Gas) endógena son insuficientes, con el tratamiento de giberelina se puede romper la dormancia y promover la germinación, ya que las Gas suplen los requerimientos de luz y frío que precisan muchas semillas para germinar. En el caso de añadir una giberelina específica, ésta a lo más coincidirá con una de las naturales que tiene la planta. Por tanto, si un proceso no responde a la adición de giberelina exógena, no puede decirse que no es regulado por giberelinas, pues puede que no se haya aplicado la

giberelina específica que regula el proceso (Barceló *et al.*, 2001).

Los bajos porcentajes de germinación, se deben a la no penetración de la giberelina a la semilla, debido a la dureza del pericarpio.

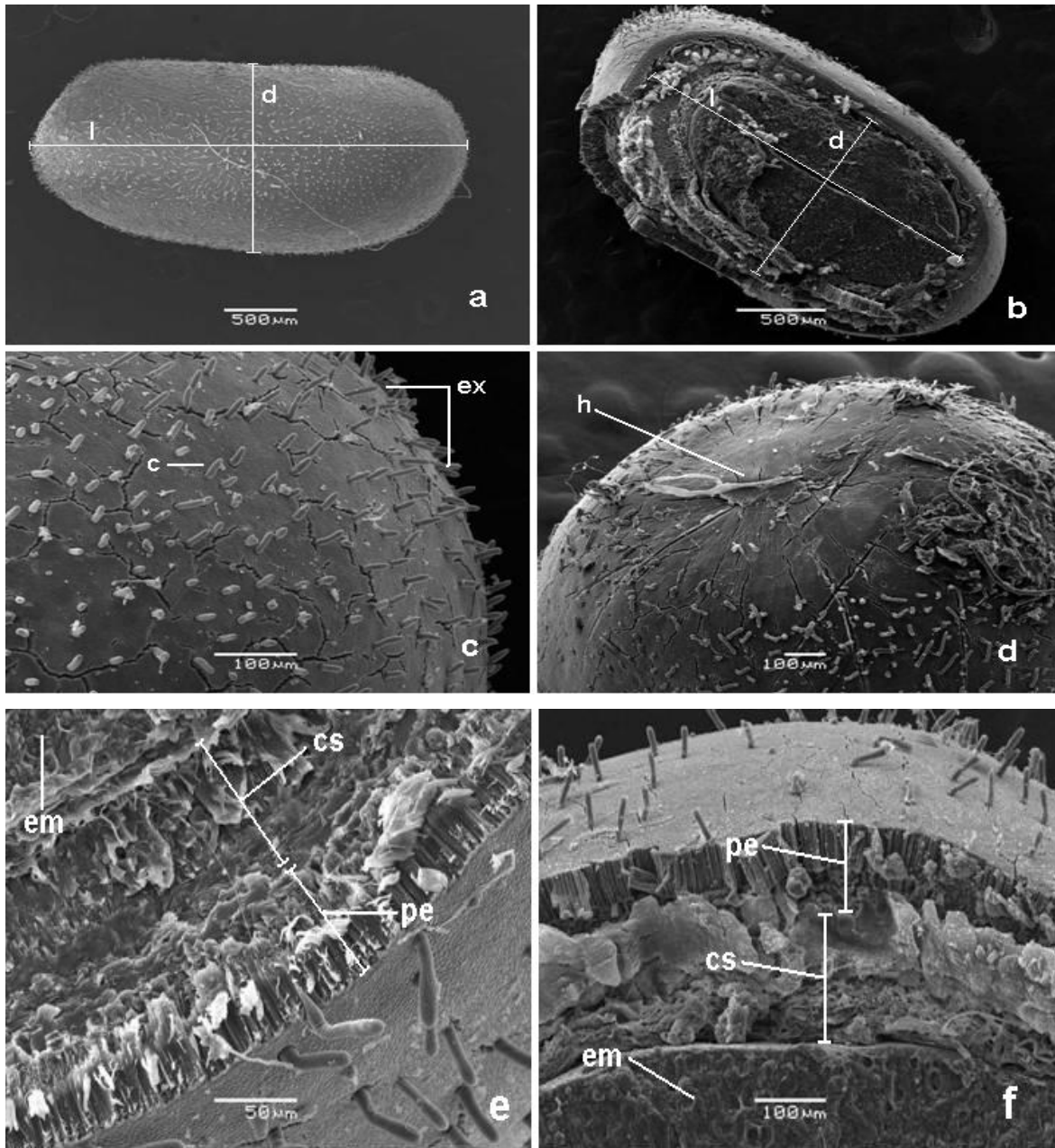
Descripción morfológica de núculas, y cambios observados durante la germinación

Día 0:

Las núculas de *L. chamaedryoides* de forma oval redondeada, presentan tamaños variables, entre 2,5 mm de longitud y 1,2 mm de diámetro, (Figura 1a). La semilla presenta 2,3 mm de longitud y 1,1 mm de diámetro aproximadamente (Figura 1b).

Figura 1

Lepechinia chamaedryoides. a. Núcula b. Semilla c. Excrecencias d. Hilo e. y f. Corte transversal. c: cubierta del fruto, d: diámetro, ex: excrecencias, h: hilo, l: longitud. cs: cubierta seminal, em: embrión, pe: pericarpio.



Las núculas poseen una superficie lisa y muricada, provista de excrecencias más o menos cilíndricas, cortas y endurecidas, las cuales se disponen en forma perpendicular a la superficie de la semilla, sin presentar un patrón de distribución definido. Su tamaño varía entre 10,4 μm a 37,9 μm de longitud y

8,35 μm a 11,4 μm de diámetro (Figura 1c). En la superficie del pericarpio, más específicamente en la zona polar basal, se observa la zona hilar (Figura 1d) la cual posee una superficie lisa desprovista de excrecencias, y el hilo, el cual presenta forma lineal, con 270 μm de largo y 40 μm de ancho, que

corresponde a la cicatriz dejada por el desprendimiento del funículo del óvulo, al secarse la semilla (Figura 1d) (Besnier, 1989).

En un corte transversal de la núcula, perpendicular al plano de los cotiledones, se distinguen claramente tres estructuras: pericarpio,

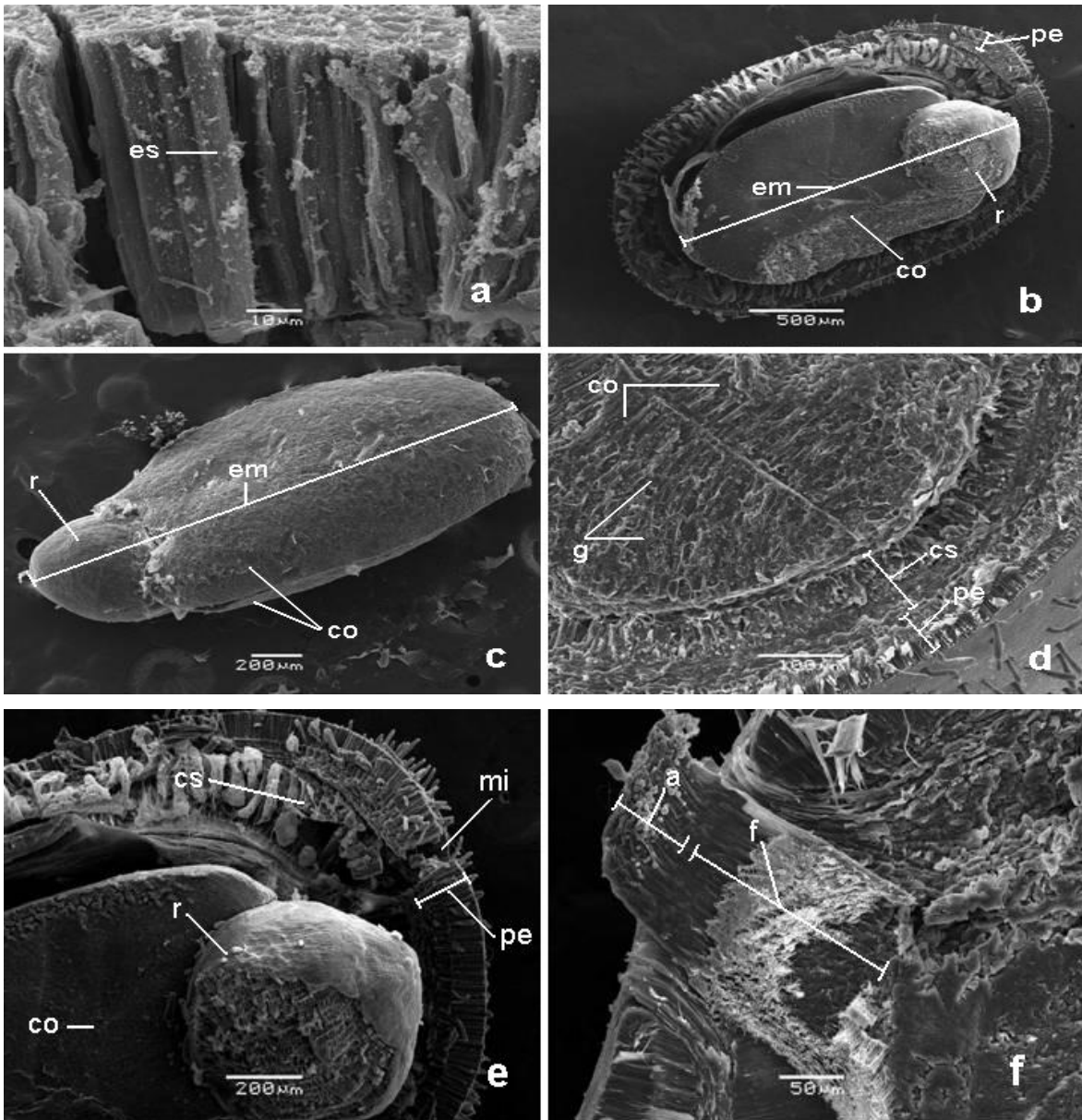
correspondiente a la pared del fruto, cubierta seminal y embrión (Figura 1e y 1f).

El pericarpio presenta 57,1 µm de grosor, y está formado por esclereidas de 42,8 µm de longitud, las cuales se disponen perpendicular a la superficie de la semilla (Figura 2a). Dimitri y Orfila (1985), señalan que la testa de semillas que son liberadas por el fruto,

Figura 2

Lepechinia chamaedryoides. a. Esclereidas (B: 10 µm). b. Embrión (B: 500 µm). c. Detalle del embrión (B: 200 µm). d. Gránulos de almidón (B: 100 µm). e. Detalle de radícula y micrópilo (B: 200 µm). f. Corte longitudinal mostrando funículo y arilo (B: 50 µm).

a: arilo, co: cotiledón, cs: cubierta seminal, es: esclereidas, em: embrión, f: funículo, g: gránulos de almidón, mi: micrópilo, pe: pericarpio, r: radícula.



y que deben afrontar las exigencias del medio, son gruesas y resistentes, entre las modificaciones que le otorgan dureza e impermeabilidad se encuentra la esclerificación. En esta especie, las modificaciones antes mencionadas las adquiere el pericarpio, dando protección a la semilla. Lo anterior es señalado por Martín *et al.* (2005) en estudios en núculas de *Lycopus L.* (Lamiaceae), indicando que la capa en empalizada adquiere gran importancia, ya que confiere cierta dureza a la núcula constituyendo a la protección del embrión. El epicarpio evidencia la presencia de mucílago, lo cual es frecuente en numerosas especies de la familia Lamiaceae (Martín *et al.*, 2006), este carácter mucilaginoso queda en evidencia tras la hidratación del fruto. Martín *et al.* (2004; 2006) indican que la excreción de mucílago confiere a núculas de la familia Lamiaceae ventajas de dispersión, fijación al suelo y germinación.

La cubierta seminal presenta un grosor aproximado de 58 μm , fusionándose con el pericarpio, esto ocurre generalmente con semillas del género Lamiaceae.

En un corte longitudinal de la semilla, se observa el embrión, el cual según la clasificación propuesta por Besnier (1989), corresponde al tipo folioso espatulado. Éste alcanza un tamaño de 1911 μm de longitud, donde la radícula mide aproximadamente 665 μm y los cotiledones, ambos de igual tamaño, rectos ovados, con el borde entero y el ápice redondeado, presentan 1622 μm de longitud, mientras que de ancho se observan medidas de 622 μm y 933 μm de radícula y cotiledones respectivamente (Figura 2b y 2c).

El grosor de cada uno de los cotiledones es de 460 μm , y están formados por tejidos parenquimáticos, esponjoso y en empalizada respectivamente. En la Figura 2d, se distinguen los gránulos de almidón de forma esférica y superficie regular, con diámetros promedios de 4,2 μm . Besnier (1989) indica que los hidratos de carbono constituyen la reserva más común en las semillas y de ellos el almidón es la forma en que

aparece con más frecuencia, acumulándose en los cotiledones en forma de granos cuyo tamaño y forma son bastante típicos para cada especie.

En la Figura 2e, se puede apreciar la superficie lisa del dermatógeno y el micrópilo, sobre el ápice de la radícula, mostrándose como una abertura que interrumpe la capa de esclereidas y los respectivos tejidos hacia el interior de la semilla.

En otro corte longitudinal se puede observar al funículo y el arilo. El primero de 196 μm de longitud y 153 μm de diámetro, y el arilo, que corresponde a una excrecencia del funículo, o del tegumento exterior, presenta 166 μm de diámetro y 130 μm de ancho aproximadamente (Figura 2f).

Día 1 – 10

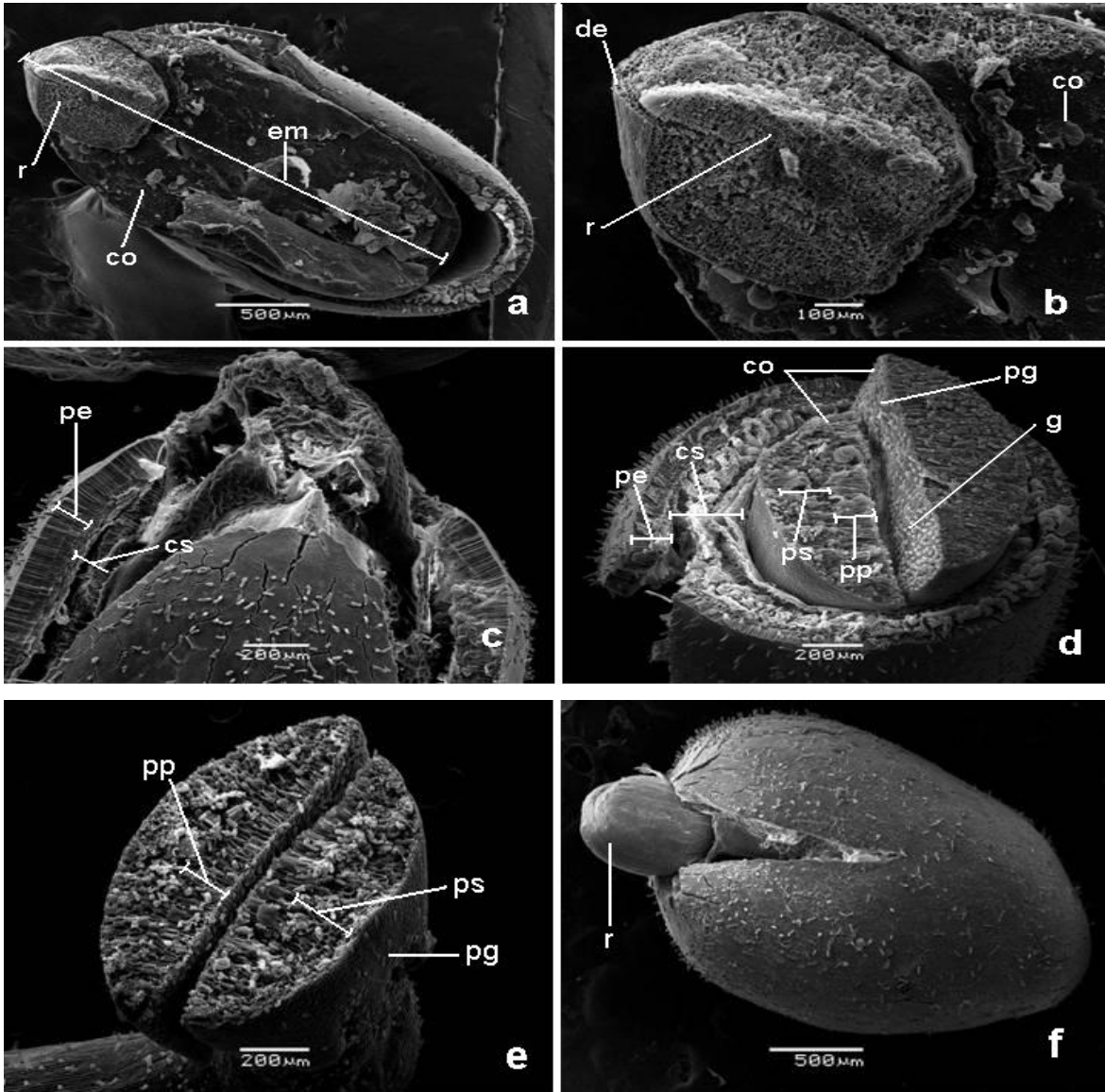
La semilla incrementa su volumen, el embrión aumenta de tamaño a 2590 μm , correspondiendo 2295 μm a la longitud de los cotiledones y 763 μm a la longitud de la radícula, en el undécimo día. El ancho, tanto de los cotiledones como del eje hipocótilo radícula, aumentó a 1113 μm y 818 μm respectivamente (Figura 3a y 3b).

Hartmann y Kester (1987) y Dimitri y Orfila (1985), indican que el embrión y el tejido de reserva se hinchan por la imbibición de agua, se diluye el protoplasma celular activándose las funciones que se traducen en el crecimiento de la plántula. Estos acontecimientos indican que la germinación ha comenzado. Al duodécimo día la cubierta seminal y el pericarpio comienzan a romperse en el extremo polar basal de la semilla, y en forma paralela al plano de los cotiledones.

Día 11 – 20: La ruptura de la cubierta seminal y el pericarpio continúa extendiéndose, debido al aumento de tamaño del embrión, identificándose epicarpio, mesocarpio y endocarpio. De igual manera, se aprecia parte de la cubierta seminal (Figura 3c).

Figura 3

Lepechinia chamaedryoides. a. Embrión (B: 500 µm). b. Detalle de radícula (B: 100 µm). c. Ruptura de la cubierta seminal (B: 200 µm). d. Detalle cotiledones (B: 200 µm). e. Cotiledones (B: 200 µm). f. Radícula emergiendo de la semilla (B: 500 µm). co: cotiledón, cs: cubierta seminal, de: dermatógeno, em: embrión, gl: glándulas, pe: pericarpio, ps: parénquima esponjoso, pp: parénquima en empalizada, pg: pelos glandulares, r: radícula.



En un corte transversal, realizado el día 11 se observan los cotiledones, en éstos se aprecia el parénquima en empalizada con tres capas de células alargadas perpendiculares a la superficie adaxial, y el parénquima esponjoso, situado hacia la superficie abaxial del cotiledón. Este último está conformado por células poliédricas irregulares, las cuales no presenta disminución en el material de reserva (Figura 3d). En un mismo tipo de corte (realizado el día 19) se puede apreciar claramente la disminución del material de

reserva en células del parénquima esponjoso permitiendo medir diámetros de 13,7 µm aproximadamente para este tipo de células (Figura 3e). Es posible observar la superficie lisa con presencia de glándulas y pelos glandulares en la superficie abaxial y adaxial del cotiledón (Figuras 3d y 3e).

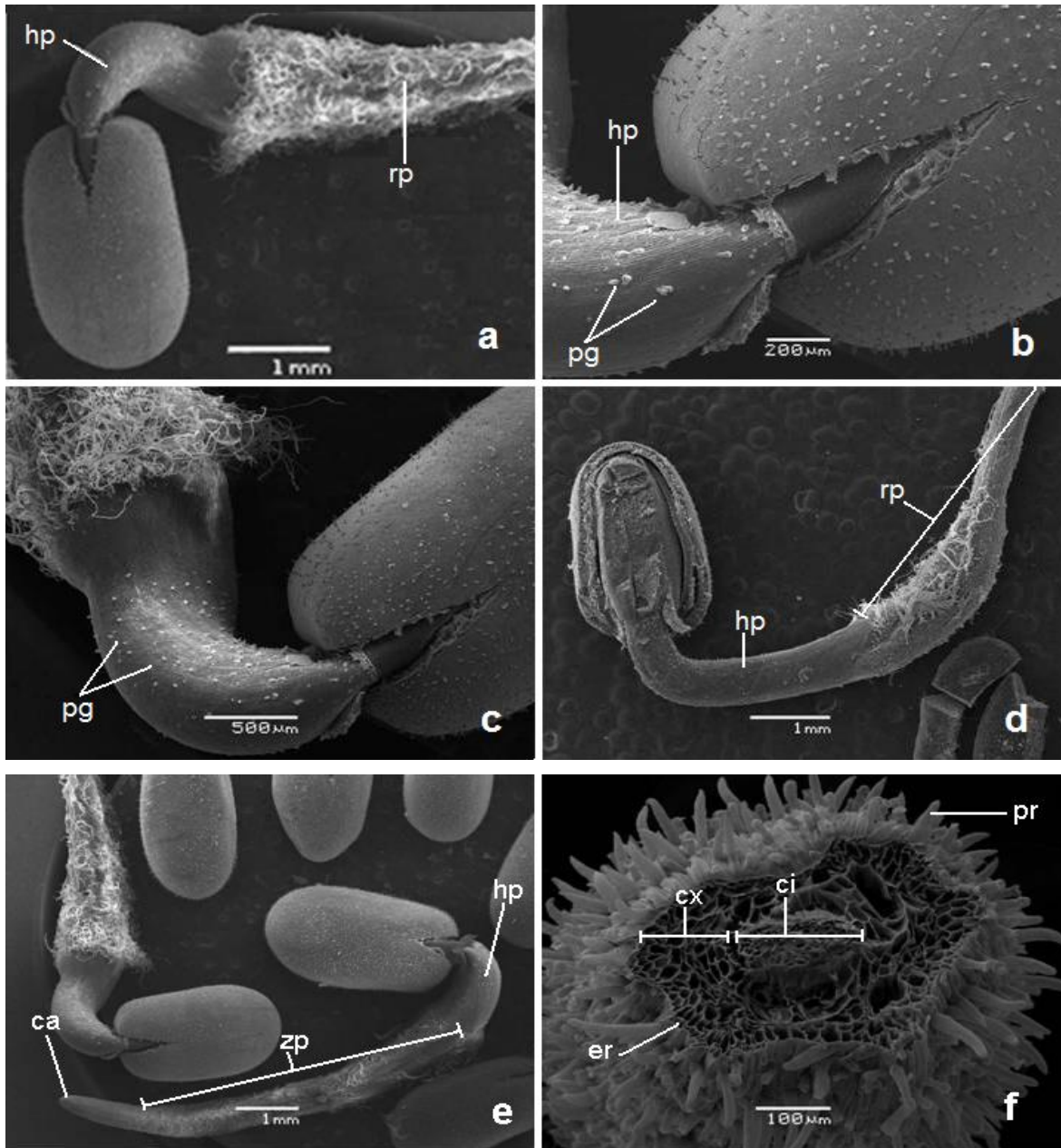
A partir del día 19, la cubierta seminal y el pericarpio se rompen completamente generando una fractura que se extiende desde el polo basal hacia el opuesto de éste, dejando visible la primera parte del

embrión, el extremo de la radícula, la cual presenta un diámetro de 584,4 μm . Es de forma redondeada sin presencia de excrescencias ni glándulas (Figura 3f), la

cual inicia su crecimiento para convertirse en la raíz primaria y pone fin al proceso de germinación (Bewley y Black, 1994 y Dimitri y Orfila, 1985).

Figura 4

Lepechinia chamaedryoides. a. Raíz primaria (B: 1 mm). b. Hipocótilo (B: 200 μm). c. Pelos radicales (B: 500 μm). d. Embrión (B: 1 mm). e. Zona pilífera y caliptra (B: 1 mm), f. Corte transversal de la raíz (B: 100 μm).
ca: caliptra, ci: cilindro vascular, cx: córtex, er: epidermis, hp: hipocótilo, pg: pelos glandulares, pr: pelos radicales, rp: raíz primaria, zp: zona pilífera.



Día 21 – 30: A partir del día 22, el embrión aumenta rápidamente de tamaño, con una notoria diferencia entre la raíz primaria y el hipocótilo, los cuales presentan 3,6 mm y 2,2 mm de longitud

respectivamente (Figura 4a). El hipocótilo continúa aumentando su longitud y diámetro, provocando un aumento de la ruptura del pericarpio y cubierta seminal, por donde saldrán los cotiledones (Figura 4b

y 4c). También es posible apreciar la superficie lisa con células alargadas y la presencia de pelos glandulares en el hipocótilo, y una gran cantidad de pelos radicales en la zona pilífera.

A partir del día 24, el embrión alcanza 9,8 mm, acentuando la diferencia entre la raíz primaria y el hipocótilo, los cuales presentan 4,5 mm y 3,3 mm de longitud respectivamente (Figura 4d). Los cotiledones y el eje hipocótilo radícula presentan un diámetro de 2 mm aproximadamente.

En la radícula alargada que conforma la raíz primaria, perfectamente diferenciada, se distingue la zona pilífera con abundantes pelos radicales y la caliptra (Figura 4e). En un corte transversal de la raíz, específicamente en la zona pilífera se distingue el

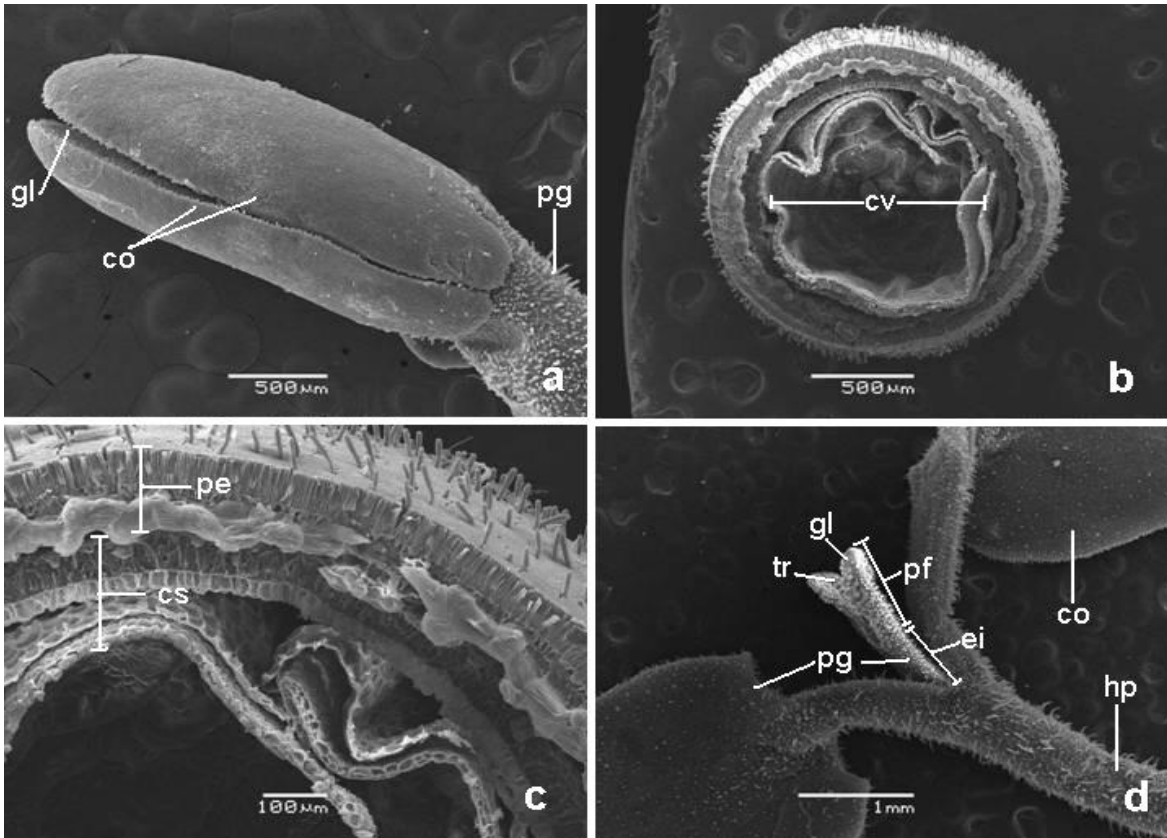
cilindro vascular, el córtex y la epidermis, con detalle de los pelos radicales (Figura 4f).

Los cotiledones presentan una superficie lisa, con células de forma regular y una notoria diferencia entre una y otra, presentando gran cantidad de glándulas en la superficie abaxial (Figura 5a).

A los 29 días aproximadamente, el embrión se desprende de la cubierta seminal (Figura 5b), permitiendo distinguir claramente entre ésta y el pericarpio (Figura 5c). La fractura sólo ocurre en el sector polar basal de la semilla, permitiendo salir cotiledones y dejando intacta el resto de la cubierta seminal, apreciándose la forma poliédrica regular de sus células, comenzando de esta forma la etapa de plántula.

Figura 5

Lepechinia chamaedryoides. a. Cotiledones (B: 500 µm). b. Cavidad dejada por la salida del embrión (B: 500 µm). c. Detalle cubierta seminal y pericarpio (B: 100 µm). d. Primordios foliares (B: 1 mm).
 co: cotiledón, cs: cubierta seminal, cv: cavidad, gl: glándulas, pr: pelos radicales, pg: pelos glandulares, pe: pericarpio, tr: tricomas, pf: primordio foliar, ei: epicótilo, hp: hipocótilo.



Día 31 – 40: A los 33 días aproximadamente, el epicótilo tiene una longitud de 0,73 mm y 0,3 mm de diámetro, en el brote se observan primordios foliares de 0,9 mm de longitud, los cuales presentan borde

crenado, y nervadura reticulada, acompañados de tricomas y células glandulares bien desarrolladas, presentes sólo en éstos. Tricomas de longitud 0.03 mm se encuentran presentes tanto en los primordios como

en el epicótilo. En tanto el hipocótilo presenta pelos y tricomas glandulares en toda su superficie (Figura 5d).

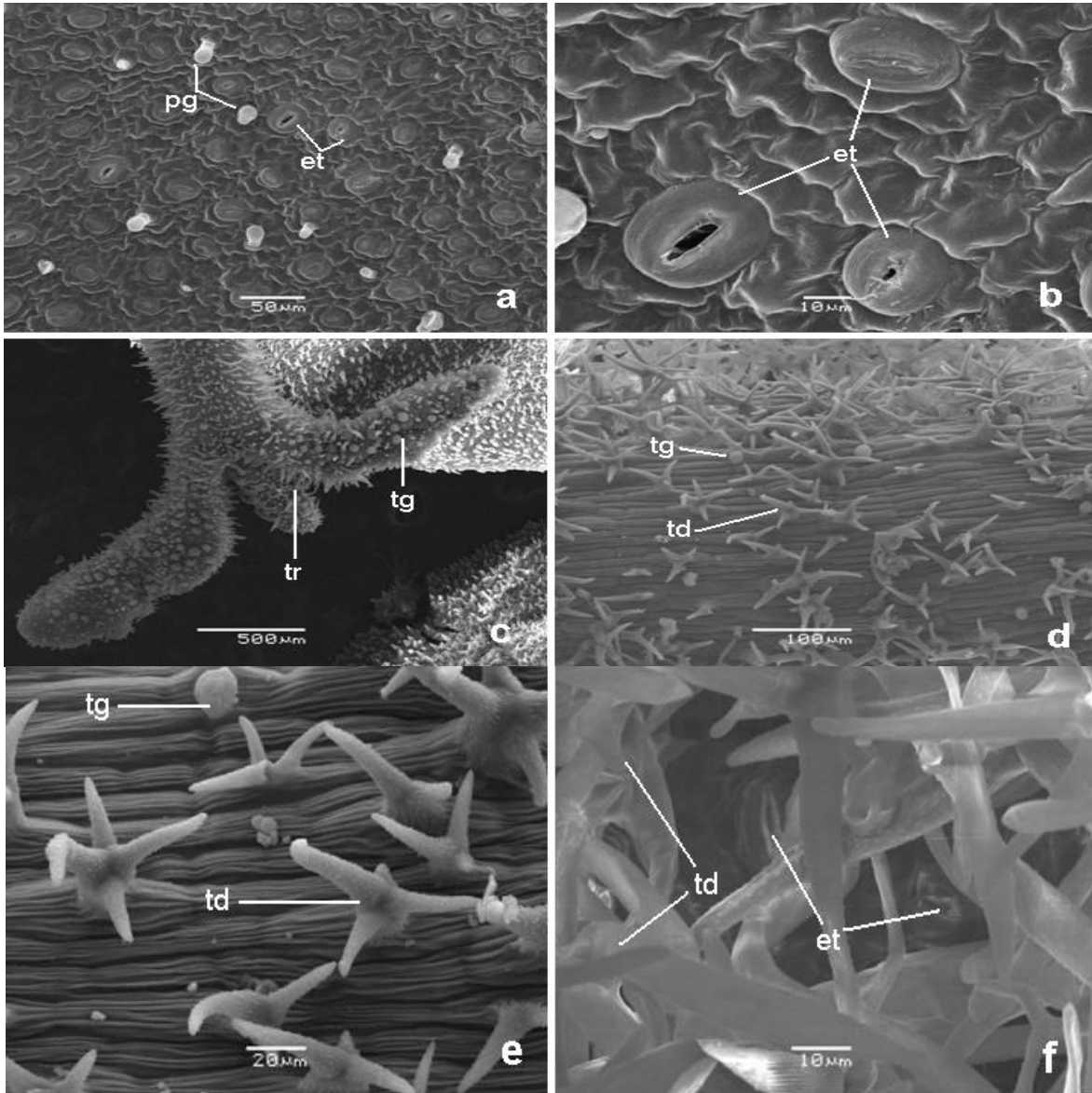
Los cotiledones presentan pelos glandulares en la cara abaxial y adaxial (Figura 6 a), estomas sólo en

la superficie abaxial, estos poseen 29 μm de largo por 25,5 μm de ancho aproximadamente con células oclusivas muy notorias, presentando un complejo estomático anomocítico (Figura 6b).

Figura 6

Lepechinia chamaedryoides. a. Estomas y pelos glandulares (B: 50 μm). b. Detalle de estomas (B: 10 μm). c. Primordios foliares (B: 500 μm). d. Tricomas dendroides y glandulares (B: 100 μm). e. Detalle de tricomas (B: 20 μm) f. Ubicación de estomas en la hoja (B: 10 μm).

et: estoma, pg: pelo glandular, tr: tricoma, tg: tricoma glandular, td: tricoma dendroide.



A los 34 días aproximadamente, el primer par de hojas se extiende alcanzando 1,4 mm de longitud (Figura 6 c). Estas observaciones indican que la planta es fotosintéticamente activa, y que ha iniciado su fase juvenil (Hartmann y Kester, 1987).

Según Riedemann y Aldunate (2004), *L. chamaedryoides* alcanza 50 cm de crecimiento a partir de semillas el primer año. En este estado, podríamos observar la presencia de tricomas glandulares y dendroides. En las siguientes fotografías se pueden apreciar estas estructuras sobre el nervio central de la hoja (Figura 6d, 6e y 6f).

Propagación vegetativa

Al analizar la Tabla N° 10, se puede apreciar que no hubo efecto de la aplicación de ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de estacas de *L. chamaedryoides*, ya que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos según análisis de varianza.

Se puede apreciar que existió una capacidad natural de enraizamiento de un 6,25% en las estacas, sin aplicación de hormona. Esto indica que el nivel endógeno de promotores de enraizamiento no sería un factor limitante en la rizogénesis. Resultados similares apreció Cornejo (1997), en propagación vegetativa en olivo, donde obtuvo un 5% de capacidad natural de enraizamiento sin la aplicación de IBA.

Estos resultados son similares a los informados por Palma (2001), quien realizó ensayos, para inducir enraizamiento de estacas de plantas femeninas de maqui, empleando cuatro concentraciones de IBA (0, 1000, 2000 y 4000 mg L⁻¹). Al analizar los resultados, concluyó que el mayor porcentaje de enraizamiento (36,6%) se obtuvo con aplicación de 1.000 mg L⁻¹ de IBA. De igual manera, Cornejo (1997) en propagación vegetativa de olivo, obtuvo sus mejores resultados (70% de enraizamiento) al someter las estacas a una concentración de 4.000 mgL⁻¹ de ácido indolbutírico.

Tabla N° 10
Resultados de propagación vegetativa. Porcentajes de enraizamiento (%).

Ácido indolbutírico (mg L ⁻¹)							
0	125	250	500	750	1000	2000	4000
6,25	6,25	12,5	0	0	25	18,7	25

Según Hartmann y Kester (1987), los factores que afectan el enraizamiento de estacas son muy numerosos, ya que influyen características fisiológicas, morfológicas y genéticas, junto a condiciones ambientales. Un factor mencionado por Baldini (1992), corresponde a la época de recolección del material, indicando que estacas colectadas en otoño enraízan mejor que aquellas recolectadas en invierno. Las estacas utilizadas en este trabajo, se recolectaron en primavera, siendo esta una posible razón de la obtención de resultados insatisfactorios de enraizamiento, por lo cual se recomendaría otra fecha de recolección. Muñoz y Solanes (1983), señalan que las estacas tienen la capacidad de formar callo, siempre y cuando sean recolectadas en la época oportuna.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación permiten concluir que:

1. Los tratamientos donde se utilizó escarificación térmica entre 70 y 100° C, y estratificación por 30 días, fueron los más efectivos para interrumpir la dormancia de semillas de *L. chamaedryoides*, ya que se logró un porcentaje de germinación entre 61 y 65%.
2. Los bajos porcentajes de germinación, en la mayoría de los tratamientos, son producto de un letargo mecánico, debido al pericarpio lignificado que presentan las núculas.
3. Mediante las observaciones realizadas en Microscopía Electrónica de Barrido, se pudo identificar características de células esclereidas, las que conforman el pericarpio lignificado.
4. En los tratamientos de propagación vegetativa, la aplicación de IBA no tuvo efecto en el enraizamiento de estacas de *L. chamaedryoides*.

REFERENCIAS

- Areche C, Schmeda-Hirschmann G, Theoduloz C, Rodríguez J. 2009. Gastroprotective effect and cytotoxicity of abietane diterpenes from the Chilean Lamiaceae *Sphacele chamaedryoides* (Balbis) Briq. **J Pharm Pharmacol** 61: 1689 - 1697.
- Azcón-Bieto J, Talón M. 1993. **Fisiología y bioquímica vegetal**. Interamericana / McGraw-Hill. Madrid, España.
- Azcón-Bieto J, Talón M. 2008. **Fundamentos de fisiología vegetal**. (2ª Ed.). McGraw-Hill / Interamericana. Madrid, España.
- Baldini E. 1992. **Arboricultura general**. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Balzarini M, González L, Tablada E, Casanoves F, Di Rienzo J, Robledo C. 2008. **Infostat: software estadístico: manual del usuario**. Versión 2008. Brujas. Córdoba, Argentina.
- Barceló J, Nicolás G, Sabater B, Sánchez R. 2001. **Fisiología vegetal**. Ediciones Pirámide. Madrid, España.
- Berti M, Tramón C, Fischer S, Wilckens R, Inostroza L, Baeza M, Tapia M, Pastene E, del Pozo A. 2006. **Avances en la multiplicación y caracterización de algunas plantas medicinales nativas**. SAG. Santiago, Chile.
- Besnier F. 1989. **Semillas: biología y tecnología**. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Bewley J, Black M. 1994. **Seeds: physiology of development and germination**. (2ª Ed.). Plenum Press. New York, USA.
- Cabello M, Ruiz T, Devesa J. 1998. Ensayos de germinación en endemismos ibéricos. **Acta Bot Malacitana** 23: 59 - 69.
- Cornejo D. 1997. **Propagación vegetativa en olivo (*Olea europea L.*) cv. Liguria**. Tesis Ingeniero Agroónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.
- Dimitri M, Orfila E. 1985. **Tratado de morfología y sistemática vegetal**. Editorial Acme. Buenos Aires, Argentina.
- Esau K. 1982. **Anatomía de las plantas con semilla**. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- Felipe A. 1999. Propagación de portainjertos por estacas. **Rev Frut** 20: 72 - 75.
- Gómez-Navarro M, Puncel M, Vásquez J. 1993. **Diccionario visual altea de las plantas**. Editorial Santillana. Madrid, España.
- Hartmann H, Kester D. 1987. **Propagación de plantas: principios y prácticas**. Editorial Continental. México D.F., México.
- Hartmann H, Kester D, Davies F. 1990. **Plant propagation: principles and practices**. (5th. ed.). Prentice-Hall Career & Technology. Englewood Cliffs, USA.
- Hess D. 1980. **Fisiología vegetal: fundamentos moleculares y bioquímico-fisiológicos del metabolismo y el desarrollo**. Ediciones Omega. Barcelona, España.
- Hoffmann A, Farga C, Lastra J, Veghazi E. 1992. **Plantas medicinales de uso común en Chile**. Ediciones Fundación Claudio Gay. Santiago, Chile.
- Jensen W, Salisbury F. 1988. **Botánica**. (2ª. Ed.). McGraw-Hill. Naucalpan de Juárez, México.
- Martín M, Pastor J, Juan R. 2004. Observaciones morfológicas y anatómicas en núculas de *Melissa L* (*Lamiaceae*) en el suroeste de España. **Lagascalía** 24: 31 - 38.
- Martín M, Pastor J, Juan R. 2005. Micromorfología y anatomía en núculas de *Lycopus L.* (*Lamiaceae*) en el suroeste de España. **Lagascalía** 25: 7 - 13.
- Martín M, Pastor J, Juan R. 2006. Observaciones morfológicas y anatómicas en núculas de *Rosmarinus l.* (*Lamiaceae*) en el suroeste de España. **Lagascalía** 26: 111 - 117.
- Massardo F, Rozzi R. 1996. Valoración de la biodiversidad: usos medicinales de la flora nativa chilena. **Ambiente y Desarrollo** 12: 76 - 81.
- Meyer B, Anderson D, Böhning R. 1960. **Introduction to plant physiology**. D. Van Nostrand Company. New York, USA.
- Montenegro G. 2002. **Chile nuestra flora útil: guía de uso apícola, en medicina folklórica, artesanal y ornamental**. Ed. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Muñoz I, Solanes J. 1983. Enraizamiento de estacas herbáceas de tres cultivares de nectarinos (*Prunus persica var. Nectarina*). Efecto del ácido indol-butírico y época de recolección. **Agric Téc** 43: 139 - 143.
- Niembro A. 1988. **Semillas de árboles y arbustos: ontogenia y estructura**. Editorial Limusa. México D.F., México.
- Niembro A. 1989. **Semillas de plantas leñosas: morfología comparada**. Editorial Limusa. México D.F., México.

- Palma M. 2001. **Propagación vegetativa de plantas femeninas de maqui *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz.** Tesis Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.
- Pastene E, Alarcón J, Avello M, Nail M, Urbina A, Sepúlveda D, Vega M. 2005. Application of HPTLC to the analysis of horminone in *Sphacele chamaedryoides* (Balbis) Briq. **J Planar Chromatography - Modern TLC** 18: 221 - 223.
- Peña R, Montenegro G, Iturriaga L, Timmermann B. 2000. *Sphacele salviae*, un recurso de medicina tradicional chilena poco conocido. **Rev Acad Colomb Cs Exact Fís Nat** 24: 193 - 199.
- Pérez F, Martínez-Laborde J. 1994. **Introducción a la fisiología vegetal.** Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Riedemann P, Aldunate G. 2004. **Flora nativa de valor ornamental: Chile Zona centro: identificación y propagación.** (2^a Ed.). Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile.
- Salisbury F, Ross C. 2000. **Fisiología de las plantas 3: desarrollo de las plantas y fisiología ambiental.** Editorial Paraninfo. Madrid, España.
- Sepúlveda D, Urbina A, Rodríguez R, Montes M, Pastene E. 1998. *Sphacele chamaedryoides* (Babis) Briq. **¿Recurso sustentable en Chile?** En: IV Congreso Internacional Gestión en Recursos Naturales: sustentabilidad del siglo XXI. 23-26 de noviembre, 1998. Termas de Puyehue. Osorno, Chile.
- Silva M. 1968. Triterpenic constituents of *Lepechinia chamaedryoides*. **J Pharm Sc** 57: 864 - 865.
- Sivori E, Montaldi E, Caso O. 1980. **Fisiología vegetal Vol. IV.** Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Stark D. 2009. Enciclopedia de la flora chilena. Universidad Austral de Chile. Ingeniería Forestal.
http://www.florachilena.cl/Niv_tax/Angiospermas/Ordenes/Lamiales/Lamiaceae/Lepechinia/chamaedryoides/Lepechinia%20chamaedryoides.htm
[Consulta: 05 agosto 2009].
- Urbina A, Sepúlveda D, Rodríguez R, Pastene E, Montes M. 1998. **Morfoanatomía de *Sphacele chamaedryoides*.** En: IV Congreso Internacional Gestión en Recursos Naturales: sustentabilidad del siglo XXI. 23 - 26 de noviembre, 1998. Termas de Puyehue. Osorno, Chile.
- Valenzuela L, Vila R, Cañigueral S, Adzet T. 1992. The Essential Oil of *Sphacele chamaedryoides*. **Planta Medica** 58: 273 - 274.
- Vogel H. 2000. **Avances en el cultivo de especies medicinales nativas de Chile.** En: Seminario Internacional y Rueda de Negocios: plantas medicinales: mercado, cultivo y procesamiento. 29 - 31 de marzo, 2000. Termas de Chillán, Chile.