

## Queule (*Gomortega keule*) y su propagación *in vitro*

Diego Muñoz Concha  
Ingeniero Agrónomo, MSc, PhD  
Escuela de Agronomía - Universidad Católica del Maule  
F: +56 75 2203583  
dmunoz@ucm.cl

### ANTECEDENTES DE LA ESPECIE

Queule es un árbol endémico de Chile que crece en forma natural en una zona geográfica muy restringida, sólo en la cordillera de la Costa, cerca del mar, entre Chanco por el norte y Cañete por el sur. En la actualidad esta zona está cubierta principalmente por plantaciones forestales de pino y eucalipto que han reemplazado al bosque nativo. Las poblaciones de queule se distribuyen en pequeños sectores de no más de una hectárea, con algunos cientos de ejemplares como máximo en cada lugar (Figura 1). No es común encontrar ejemplares de gran desarrollo (Figura 2). En la actualidad los árboles corresponden en su mayor parte a rebrotes de individuos antiguos que fueron dañados por incendios o tala. La usual disposición de los rebrotes en círculo, con restos de madera quemada o en descomposición al centro, es una muestra de su pasado reciente (Figura 3).

Esta especie es la única en la familia Gomortegaceae, lo que constituye una situación muy especial dentro de la flora de un país (Hechenleitner et al 2005). En Chile hay solamente dos especies con esta particular característica, la de pertenecer a una familia monotípica. Eso quiere decir que la especie es depositaria de información genética propia e irrepetible, desarrollada y adaptada a su hábitat a través de millones de años de evolución, moldeada por su historia natural y actualmente también moldeada por la influencia humana.



Figura 1: Los árboles de queule se encuentran en bosques costeros de las regiones del Maule, Ñuble y Bío-Bío.



Figura 2: Árbol adulto de queule, sobreviviente en una plantación de eucalipto en la cordillera de la Costa.



**Figura 3:** La mayoría de los árboles de queule que se observan hoy día corresponden a rebrotes alrededor de los restos de antiguos troncos.



**Figura 4:** El fruto de queule madura en otoño y corresponde a una drupa ínfera.

Este árbol crece en suelos graníticos y habita en un clima templado de temperaturas moderadas gracias a la influencia marítima. Usualmente se entremezcla con las especies del bosque caducifolio costero como roble maulino, lingüe, peumo y coigüe. Sus pequeñas flores otoñales son visitadas por insectos, especialmente sírfidos (Lander et al 2009). Las hojas son grandes y siempreverdes, pudiendo ser fácilmente confundibles con las del lingüe, canelo o incluso laurel, aunque su olor es particular. El fruto amarillo y de gran tamaño (como un níspero) permite verificar inmediatamente que se trata de queule (Figura 4).

### IMPORTANCIA DE LA ESPECIE

La primera razón que debemos considerar al valorar esta especie es su estado de conservación. Ha sido clasificada

como una especie en peligro de extinción y está considerada entre las de mayor prioridad para su cuidado en Chile. Sus poblaciones pequeñas y fragmentadas ponen de manifiesto su preocupante situación, que se agrava con el hecho de que en la actualidad prácticamente no hay regeneración natural por semilla (Figura 5). Así y todo, gracias a que tiene la capacidad de rebrotar abundantemente desde la base del tronco, ha podido sobrevivir y mantenerse en lugares alterados. Adicionalmente, este árbol ha sido declarado Monumento Natural, por lo que el país reconoce en la especie un sujeto de protección por sus atributos científicos y de conservación biológica (Ministerio de Agricultura 1995).

La utilidad que una planta presta al ser humano es frecuentemente la forma más fácil de apreciarla. Los usos históricos dados al queule comprenden en primer lugar el fruto (Figura 6), luego la madera, y por último varios usos menos conocidos pero de importancia cultural, que incluyen la tinción de lana y la utilización de hojas como saborizante en el mate (Muñoz-Concha y Garrido-Werner 2011).



**Figura 5:** Cada año es posible observar germinación de queule en la hojarasca del bosque, pero las plantas no sobreviven en el tiempo.



**Figura 6:** La pulpa comestible del fruto de queule rodea al pericarpio (cuesco), que es extremadamente duro.



Figura 7: El fruto de queule puede utilizarse en fresco o para la preparación de mermeladas y conservas.

El fruto comestible puede ser utilizado fresco o procesado (Figura 7), existiendo menciones muy antiguas de su uso. Actualmente es muy poco conocido en el país y no es posible encontrarlo en el mercado, pero en el futuro podría convertirse en una alternativa comercial para la producción de fruta, y de productos derivados de ella. Para lograr esto es fundamental producir frutos en árboles cultivados. El sabor del fruto es aromático y no se asemeja a las frutas más comunes. Tiende a ser dulce cuando maduro y astringente cuando no ha madurado bien, especialmente su cáscara. En la naturaleza quedan pocos árboles, y puesto que están en situación de gran fragilidad para su supervivencia, la posibilidad de utilizar el fruto de queule pasa necesariamente por el desarrollo del cultivo.

La madera, de excelentes cualidades, fue utilizada en el pasado para muebles y construcción. Hoy ya no se explota gracias a la mayor conciencia que existe y a la protección legal que el Estado le ha otorgado. Varios autores mencionan también el potencial ornamental del árbol, que podría aprovecharse especialmente en comunas costeras de Chile centro-sur (Muñoz-Concha y Davey 2011a).

Este árbol posee ciertas características que lo hacen parecer adaptado a un ecosistema distinto al que observamos hoy. Su fruto, de pulpa comestible, es bastante grande y tiene un hueso extremadamente duro que protege la semilla. A pesar de esto, no existen animales nativos en su zona natural de distribución que, alimentándose del fruto, puedan dispersar la semilla. Por otro lado, se sabe que en Chile central existían varios animales (Figura 8) de gran tamaño (megafauna) que se extinguieron al término del último periodo glacial, hace unos 10-12 mil años (Muñoz-Concha et al 2017). La observación en plantas de adaptaciones a animales llevó a los científicos a proponer que en el continente americano sobreviven numerosas especies de plantas que evolucionaron en ecosistemas habitados por megafauna hoy extinta (Janzen y Martin 1982; Guimarães et al 2008).

Queule es un árbol de carácter patrimonial para nuestro país. Está ligado a nuestra prehistoria y su megafauna, a la población humana que lo utilizaba en su zona de distribución, representa un acervo genético único en su exclusiva familia botánica, y es también una oportunidad para desarrollar un cultivo frutal y nuevos productos alimenticios para el futuro.



Figura 8: En Chile central existían animales de gran tamaño como los gonfoterios, que probablemente consumían los frutos y dispersaban la semilla de queule.

## PROPAGACIÓN POR MÉTODOS TRADICIONALES

La propagación de queule con técnicas tradicionales incluye la germinación de semillas y la multiplicación por estacas. La semilla de queule se encuentra protegida dentro de un endocarpio lignificado que ha sido indicado como el responsable de la dormancia. No obstante, la semilla puede verse dañada si es extraída rompiendo mecánicamente el endocarpio (Jara 2006), por lo cual se ha utilizado una escarificación mecánica que genere una grieta. Esto mejoraría la germinación, que sobrepasa el 40% (Morales y Calquín 2004) e incluso llega al 80% (Contreras 2017) en la primavera del año siguiente a la recolección de los frutos. Las plantas así obtenidas crecen lentamente y deben ser protegidas del sol directo con una malla Raschel 80%. También es esencial evitar el exceso de agua, que favorecería el ataque a la raíz del hongo *Phytophthora* (Leyton y Morales 2017). Es probable que las condiciones ambientales (patrones de luz, temperatura y humedad) y de suelo, incluyendo la participación de micorrizas, sean limitantes para su adaptación en la depresión intermedia del país.

La propagación por estacas está aún poco estudiada pero no ha sido promisoriosa. Peña (1995) realizó un minucioso estudio probando distintas concentraciones de auxina para inducir el enraizamiento con material vegetal obtenido en cada mes del año. Pero debido a la calidad de las raíces y el bajo nivel de enraizamiento obtenido (3%), no fue posible desarrollar un método exitoso. Existen otras iniciativas que señalan hasta un 10% de enraizamiento con problemas de plagiotropismo (Hechenleitner et al 2005).

## LA TÉCNICA DE PROPAGACIÓN *IN VITRO*

Las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales incluyen un amplio abanico de procedimientos de gran utilidad en la investigación científica y también con aplicaciones concretas en la producción de plantas. Entre las técnicas *in vitro*, o procesos que incluyen el uso de estas técnicas, están la proliferación de tejidos vegetales (brotes, raíces, callo, o células en suspensión), la obtención de tejidos libres de patógenos, la embriogénesis somática, la criopreservación, el rescate de embriones, la manipulación de ploidía y la transformación genética (Loberant y Altman 2010). La



Figura 9: En la micropropagación se cultivan y multiplican brotes en condiciones estériles (en ausencia de microorganismos).

micropropagación de plantas en particular consiste en la producción de grandes cantidades de brotes cultivados *in vitro* que luego enraizarán y formarán plantas que deberán adaptarse a condiciones de campo para ser utilizadas en la agricultura o con otros fines. La propagación *in vitro* necesita cumplir ciertas etapas para llegar al objetivo de contar con plantas adaptadas. La primera es la introducción de material vegetal desde el campo a la condición *in vitro*. Luego es necesario contar con protocolos y condiciones de cultivo *in vitro* que permitan la proliferación de brotes (Figura 9) y su posterior enraizamiento. Finalmente es necesario aclimatar las plantas para que se adapten desde una condición *in vitro* al ambiente de campo o fuera del laboratorio.

El cultivo *in vitro* descansa en una propiedad fundamental de las células vegetales vivas: la totipotencialidad. Esto quiere decir que las células vegetales tienen individualmente la capacidad de regenerar (producir) una planta completa gracias a la información genética que contiene cada una. Las plantas así producidas serán copias genéticas exactas de la planta desde donde se obtuvo el material inicial, a menos que ocurran mutaciones o variaciones epigenéticas. Un tejido (callo) u órgano (brote) cultivado *in vitro* está en una condición aséptica o estéril, es decir libre de microorganismos. Requiere además un medio de cultivo que contenga una solución de agua con nutrientes, azúcar, hormonas y aditivos como agar (que actúa como gelificante). El contenedor o frasco, normalmente de vidrio, se mantiene en un recinto con temperatura y luz controladas.

Las ventajas de la micropropagación incluyen la posibilidad de producir una enorme cantidad de plantas genéticamente iguales en un tiempo relativamente breve y en un espacio físico reducido, en comparación con técnicas tradicionales. La producción de plantas libres de patógenos y el fácil transporte de material vegetal son aspectos positivos adicionales. Entre las desventajas están la posibilidad de que ocurra variación somaclonal por mutaciones o cambios epigenéticos, la contaminación de los cultivos con microorganismos, y la pérdida de plantas en la etapa de aclimatación. Se trata también de una tecnología que requiere infraestructura y equipos caros, y conocimiento especializado. Las condiciones de cultivo, y especialmente el tipo y concentración de nutrientes y hormonas, son gravitantes en el resultado a obtener y pueden ser diferentes para cada especie e incluso variedad. No todas las plantas responden de la misma manera al cultivo *in vitro*: algunas proliferan muy bien pero otras presentan grandes dificultades o incluso no pueden propagarse por este medio.

### MICROPROPAGACIÓN DE QUEULE

Las primeras incursiones en el cultivo de tejidos de queule se realizaron en los años 80 y lograron la introducción de material vegetal *in vitro*, la proliferación de brotes y la observación de algunas raíces. Esas experiencias sirvieron de base para nuevas investigaciones que profundizaron en otros aspectos del cultivo de tejidos en la especie.

Más recientemente se han probado distintos tejidos como fuente de material para iniciar el cultivo *in vitro*, evaluando tipos y concentraciones de hormonas y medios de cultivo para la proliferación de brotes. Producto de estos trabajos, se logró obtener una proliferación de brotes estable en el tiempo en medio WP con 0,1 mg/L de la hormona auxina ácido naftalén acético y 1 mg/L de la citoquinina bencilaminopurina, aspecto fundamental para continuar con las etapas siguientes de la micropropagación. Al cultivar brotes en un medio desprovisto de hormonas pero con carbón activado, se observó que desarrollaban un mayor tamaño y eran capaces de enraizar, formando una plántula que luego fue posible aclimatar (Figura 10). El contar con este método permite entonces materializar la producción de plantas de queule mediante micropropagación (Muñoz-Concha y Davey 2011b). Esto abre una vía concreta para obtener muchas plantas de queule sin recurrir a semillas. Sin embargo, como se discutió, se trata de una técnica cara



Figura 10: El enraizamiento es un paso necesario para obtener una planta *in vitro* que luego podrá ser aclimatada.

que hasta el momento no se ha utilizado en mayor escala ni comercialmente.

La investigación de técnicas *in vitro* aplicadas al queule ha permitido además observar la embriogénesis somática (Muñoz-Concha et al 2012). Este fenómeno consiste en el desarrollo de un embrión a partir de una célula somática en tejidos cultivados *in vitro*, mientras que en condiciones naturales un embrión normalmente se forma sólo dentro de la semilla. La embriogénesis somática ha despertado gran interés porque en teoría (y en la práctica para ciertas especies de árboles) permite la producción de enormes cantidades de plantas de buenas características para plantaciones comerciales.

Otro procedimiento investigado en queule es el cultivo de células en medio líquido. En este caso el cultivo se realiza sin la utilización de agar en el medio, manteniendo una agitación constante para que las células reciban oxígeno. El cultivo de células de queule en una suspensión líquida permitió ensayar la criopreservación. Esta técnica persigue conservar tejidos en nitrógeno líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , manteniéndolos inalterados por tiempo indefinido. Una de las dificultades de la criopreservación radica en lograr el descongelamiento del tejido sin dañarlo para que retome su crecimiento. En queule se observó la recuperación exitosa en la proliferación luego de criopreservar tejido embriogénico cultivado en medio líquido (Muñoz-Concha y Davey 2010).

Se ha observado que la proliferación *in vitro* de brotes en distintos genotipos de queule es muy desigual, con

genotipos que proliferan satisfactoria y consistentemente por varios años, mientras que otros no logran establecerse en un cultivo *in vitro*. Para enfrentar esta situación se han ensayado diferentes concentraciones hormonales y también variaciones en las concentraciones de nutrientes del medio de cultivo (Fariás y Mancilla 2017; Olmedo y Soriano 2018). Estas experiencias confirman la diferente respuesta que muestran los distintos genotipos de queule. Consecuentemente, se han encontrado mejores condiciones de cultivo para algunos genotipos (Muñoz-Concha 2018). A causa de esto, para la propagación de un determinado genotipo seleccionado por ejemplo por su interés para la producción de frutos, será necesario ensayar y encontrar la combinación de nutrientes propicia para su cultivo satisfactorio (Figura 11).

### CONSERVACIÓN DE LA ESPECIE Y CULTIVO DE TEJIDOS

Actualmente, la producción de plantas de queule es escasa. Algunas empresas forestales, Conaf, y un par de viveros de plantas nativas producen plantas de este árbol a partir de semillas. Sin embargo, la cantidad de semilla disponible es limitada debido a que cada fruto sólo contiene una o dos semillas, y además porque los árboles productivos no son abundantes. Por otro lado, el hecho de que la especie esté en peligro de extinción y sea monumento natural, puede plantear restricciones a la extracción de semillas del bosque. A pesar de esto, la falta de regeneración natural, posiblemente por la acción de herbívoros como liebres y ganado, constituiría un argumento a favor de la recolección de semillas para producir plantas. Los problemas discutidos, junto a la lenta germinación y la problemática sobrevivencia de plantas de la especie, hacen que la producción de plantas de queule por micropropagación pueda llegar a ser muy relevante.

La disponibilidad de protocolos efectivos para la micropropagación de queule constituye entonces una importante herramienta para apoyar la conservación de la especie. Las plantas producidas por esta vía pueden ser usadas para la conservación *ex situ* (fuera del ecosistema natural) en jardines botánicos, en parques y arbolado público, y también para la plantación en ambientes naturales (*in situ*), aunque con ciertas limitaciones. Es adecuado recordar que la conservación *ex situ* es vista como una estrategia complementaria a la conservación *in situ*.



Figura 11: La composición del medio de cultivo tiene una gran influencia en el desarrollo *in vitro* de brotes de queule.

Una de las formas tradicionales de conservación *ex situ* es el cultivo de un árbol en campo. En el caso de queule, hay algunas instituciones que mantienen plantas vivas en sus colecciones. En el Jardín Botánico de la Universidad Austral (Valdivia) hay ejemplares con varios años de crecimiento, mientras que dos plantas fueron donadas al Jardín Botánico Nacional (Viña del Mar) y actualmente se encuentran sanas y con cerca de un metro de altura. En el Jardín Botánico de Edimburgo (Reino Unido) se mantiene un ejemplar de unos 3 metros de altura y en buenas condiciones. En el Real Jardín Botánico de Kew (Reino Unido) se recibieron algunas plantas, pero la última murió en 2012. Las técnicas *in vitro*, que incluyen la criopreservación y el cultivo con crecimiento lento, abren la puerta para utilizar vías alternativas al cultivo de plantas en campo para la conservación *ex situ*. En cuanto a material de queule conservado *in vitro*, sólo se tiene información de genotipos mantenidos como brotes en cultivo en la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica del Maule.

Si bien las técnicas *in vitro* son de gran utilidad para la producción masiva de plantas, tienen limitaciones en

la diversidad genética posible de mantener con fines de conservación. Aun así, la conservación *ex situ* apoyada en la micropropagación es una estrategia complementaria para avanzar en la conservación biológica de plantas, e incluso puede llegar a ser fundamental para la recuperación de una especie en peligro crítico (Baker et al 2014).

## PERSPECTIVAS FUTURAS DE DESARROLLO

Hoy probablemente existe en el país un cierto interés del público general por conseguir plantas de queule, pero no hay una oferta estable de plantas. Falta entonces que se materialice la producción de plantas de la especie en algún vivero que pueda ofrecer material disponible para las personas interesadas.

En la micropropagación de queule es un desafío pendiente el encontrar protocolos de proliferación de brotes que sean efectivos para genotipos seleccionados que no responden bien a los medios de cultivo *in vitro* actualmente disponibles. Para esto será necesario encontrar combinaciones adecuadas de nutrientes y hormonas. Una alternativa a este proceso es ensayar técnicas de injertación que permitan propagar genotipos de interés usando como patrones genotipos que responden bien a la micropropagación.

En relación al cultivo agronómico u ornamental del árbol, es necesario conocer mejor las condiciones para lograr el crecimiento sostenido de plantas por varios años, con el fin de dar lugar a un árbol que produzca frutos. Esto posiblemente pasa por lograr condiciones de suelo y humedad que eviten el ataque de hongos, junto con un mejor conocimiento de las condiciones lumínicas que la planta requiere. Las mejores probabilidades de éxito para el cultivo estarán dentro de la zona de distribución natural de la especie.

La valoración social de la especie queule es un área que también tiene desafíos y donde es fundamental que las personas sepan de la existencia de este árbol. Aunque ya existe cierta valoración de la especie en círculos especializados, es necesario ampliar el alcance del conocimiento científico a un público más general, para que una mayor cantidad de personas conozca y valore la conservación de queule.

Para la conservación de queule es primordial constatar que las poblaciones y ejemplares existentes están prácticamente en su totalidad en la naturaleza. Debido a esto, es racional y lógico que los esfuerzos principales de conservación sean dirigidos a la protección de esos árboles.

No obstante, y producto del valor que la sociedad vaya asignando a la especie, el cultivo con fines ornamentales, educativos, y comerciales será de gran relevancia para queule, y para el cultivo es fundamental la producción de plantas mediante micropropagación.

## CONCLUSIONES

La propagación de queule por medios tradicionales es difícil pero efectiva, siendo la multiplicación por semilla la vía corrientemente utilizada. En forma complementaria se han realizado, a través de un largo periodo, varias investigaciones científicas que generaron el conocimiento necesario para su micropropagación. La producción de plantas de esta especie, todavía muy escasa, puede verse fuertemente favorecida mediante la propagación *in vitro* utilizando las técnicas hoy disponibles.

El cultivo *in vitro* de tejidos puede ayudar a la conservación de queule mediante variadas técnicas. Sin embargo, la micropropagación es una herramienta ya disponible que ayudará al desarrollo del cultivo de esta especie con el fin de poder aprovechar su fruto o sus atributos ornamentales de manera sustentable.

Este árbol es una especie que debe ser considerada como pieza fundamental en el patrimonio biológico de Chile. No sólo está ligado a nuestro pasado como un sobreviviente a la extinción de los animales que dispersaban su semilla, y al pasado reciente de pueblos originarios, sino que se abre al futuro como oportunidad para brindarnos alternativas de alimentos. Estos ingredientes son los ideales para realizar actividades de educación ambiental y para echar a andar iniciativas de conservación exitosa con el apoyo de la ciudadanía.

## BIBLIOGRAFÍA

- Baker K, Lambdon P, Jones E, Pellicer J, Stroud S, Renshaw O, Niissalo M, Corcoran M, Clubbe C, Sarasan V. 2014. Rescue, ecology and conservation of a rediscovered island endemic fern (*Anogramma ascensionis*): *ex situ* methodologies and a road map for species reintroduction and habitat restoration. *Botanical Journal of the Linnean Society* 174:461-477.

- Contreras J. 2017. Viabilidad y germinación de semillas de *Gomortega keule* (Mol.) Baillon luego de almacenamiento. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Chile. 62p.
- Farías E, Mancilla C. 2017. Modificación de la concentración de nutrientes en el medio para el cultivo in vitro de *Gomortega keule*. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Chile. 20p.
- Guimarães PR, Galetti M, Jordano P. 2008. Seed dispersal anachronisms: rethinking the fruits extinct megafauna ate. PLoS One 3:e1745.
- Hechenleitner P, Gardner MF, Thomas PI, Echeverría C, Escobar B, Brownless P, Martínez C. 2005. Plantas amenazadas del centro-sur de Chile. Distribución, conservación y propagación. Valdivia, Universidad Austral de Chile and Royal Botanic Garden of Edinburgh. 188p.
- Janzen DH, Martin PS. 1982. Neotropical anachronisms: the fruits the Gomphotheres ate. Science 215:19-27.
- Jara H. 2006. Ensayo de germinación en queule *Gomortega keule* (Mol.) Baillon (Magnoliopsida, Gomortegaceae). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Chile. 62p.
- Lander TA, Harris SA, Boshier DH. 2009. Flower and fruit production and insect pollination of the endangered Chilean tree, *Gomortega keule* in native forest, exotic pine plantation and agricultural environments. Revista Chilena de Historia Natural 82:403-412.
- Loberant B, Altman A. 2010. Micropropagation of plants. En: Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology (Flickinger MC, ed). John Wiley and Sons. Pp 1-17.
- Ministerio de Agricultura. 1995. Declara monumento natural las especies forestales Queule, Pitaio, Belloto del Sur, Belloto del Norte y Ruil. Decreto Supremo N° 13 de 1995, Chile.
- Morales E, Calquín R. 2004. Experiencia en germinación en Queule (*Gomortega keule* (Mol.) Baillon. Mundo Forestal 4:22-25.
- Muñoz-Concha D, Davey MR. 2010. Criopreservación de *Gomortega keule*, árbol en peligro de extinción. Libro de resúmenes, X Congreso Latinoamericano de Botánica. La Serena, Chile.
- Muñoz-Concha D, Davey MR. 2011a. *Gomortega keule*, the neglected and endangered Chilean fruit tree. European Journal of Forest Research 130:677-693.
- Muñoz-Concha D, Davey MR. 2011b. Micropropagation of the endangered Chilean tree, *Gomortega keule*. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant 47:170-175.
- Muñoz-Concha D, Garrido-Werner A. 2011. Ethnobotany of *Gomortega keule*, an endemic and endangered Chilean tree. New Zealand Journal of Botany 49:509-513.
- Muñoz-Concha D, Mayes S, Ribas G, Davey MR. 2012. Somatic embryogenesis from zygotic embryos and shoot-tips of the Chilean tree *Gomortega keule*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 109:123-130.
- Muñoz-Concha D, Davey MR, Ribas R, Mayes S. 2017. Microsatellite analysis of populations of the endangered tree *Gomortega keule* suggests pre-Columbian differentiation. New Zealand Journal of Botany 55:318-333.
- Muñoz-Concha D. 2018. Somatic Embryogenesis in *Gomortega keule*. En: Step Wise Protocols for Somatic Embryogenesis of Important Woody Plants (Jain SM, Gupta P, eds). Volume II. Forestry Sciences 85. Second Edition. Springer International Publishing AG. Cham, Switzerland. Pp. 129-138.
- Olmedo CL, Soriano DN. 2018. Modificación del contenido de N y Ca en el medio para el cultivo in vitro de *Gomortega keule* (Mol.) Baillon. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Chile. 23p.
- Peña K. 1995. Enraizamiento de queule (*Gomortega keule* (Mol.) Baillon) y su relación con el contenido y tipo de fenoles. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile, Chile. 141p.