

## **Variación en la composición de polifenoles en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infestación por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae)**

Ignacio J. Agudelo y Rafael A. Ricco\*

Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina.

\*Autor a quien dirigir la correspondencia: raricco@ffyb.uba.ar.

### **Resumen**

*Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) es una especie empleada como expectorante y purgante en la medicina popular argentina. Es infectada por diversos insectos, como *Calophya mammifex* (Hemiptera:Psyllidae) y *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae), al promover la formación de agallas foliares y caulinares dentro de las cuales el insecto desarrolla su ciclo vital. El objetivo del trabajo abarca el estudio de las posibles variaciones del perfil de polifenoles asociados a la infestación por *Cecidoses eremita* de los tallos de *Schinus longifolius*. Se analizaron los fenoles totales, los taninos totales, las proantocianidinas, los flavonoides totales y los ácidos hidroxicinámicos totales de los tallos sanos y de las agallas caulinares de *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) infectado por *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae). La agalla presenta una variación cuali-cuantitativa del perfil de polifenoles respecto del tallo sano, y se determina aumento de los fenoles, taninos, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos, y disminución en el contenido de las proantocianidinas respecto del tallo sano. Estos resultados toman relevancia cuando son analizados desde el punto de vista del control de calidad de una droga vegetal. La presencia de agallas produciría cambios en el perfil de los polifenoles, que se podrían ver acompañados de una modificación en la actividad farmacológica esperada.

### **Variation in the polyphenols composition in *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) in response to infestation by *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera-Cecidosidae)**

### **Summary**

*Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) is a species used as expectorant and purgative in the Argentinian folk medicine. It is infected by various insects, as *Calophya mammifex* (Hemiptera: Psyllidae) and *Cecidoses heremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae), leading to the formation of leaf and stem galls within these the insect carries out its life cycle. The aim of this work includes the study of possible variations in the polyphenol profile associated with infestation of *Schinus longifolius* stems by *Cecidoses eremita*. Total phenols, total tannins, proanthocyanidins, total flavonoids and total hydroxycinnamic acids of healthy stems and galls of *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) infected by *Cecidoses eremita* Curtis

---

**Palabras clave:** agallas - *Cecidoses eremita* - polifenoles - *Schinus longifolius*.

**Key words:** aalls - *Cecidoses eremita* - polyphenols - *Schinus longifolius*.

(Lepidoptera–Cecidosidae) were analyzed. The galls present qualitative and quantitative changes in the profile of the polyphenolic compounds analysed regarding the healthy stem, with a higher content of total phenols, tannins, flavonoids and hydroxycinnamic acids and a lower content of proanthocyanidins. These results become significant when they are analyzed from the point of view of the quality control of a plant drug. The presence of galls produce changes in the profile of polyphenols, which may be accompanied by a change in the expected pharmacological activity.

## Introducción

*Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) es un árbol originario de Sudamérica, muy común en la zona de las barrancas del delta del Paraná, y ha sido mencionado como expectorante y purgante en la medicina popular argentina (Cabrera y Zardini, 1978; Lahitte y col., 1998). El árbol es infectado por diversos insectos galígenos, como *Calophya mammifex* (Hemiptera: Psyllidae) (Agudelo y col., 2013) y *Cecidoses eremita* Curtis (Lepidoptera - Cecidosidae).

Las agallas o cecidias son estructuras generadas por un organismo inductor sobre un vegetal (Meyer, 1987), que induce un crecimiento anómalo de la planta. Esta formación le permite al insecto nutrirse y cumplir su ciclo vital. Se producen así fenómenos de hipertrofia e hiperplasia celular, que generan no solo la estructura anómala antes mencionada, sino también cambios en la producción de metabolitos secundarios (Bronner, 1977; Shorthouse, 1986; Hartley y Lawton, 1992; Hartley, 1998; Stone y Schönrogge, 2003).

Las agallas se han utilizado desde tiempos ancestrales como droga vegetal con propiedades astringentes, cicatrizantes, antidiarreicas, en el tratamiento de la disentería, en procesos inflamatorios y heridas, en enfermedades de la cavidad oral, garganta y en el tratamiento de la hemorroide, entre otros (Khare, 2007). Los compuestos polifenólicos son importantes mediadores en las interacciones bióticas y abióticas de las plantas (Waterman y Mole, 1994), y tienen una especial importancia en la relación con los insectos fitófagos, donde cumplen una función defensiva (Waterman y Mole, 1994; Matsuki, 1996; Harborne y Williams, 2000; Simmonds, 2001, 2003). Dentro de los compuestos polifenólicos podemos contar los taninos hidrolizables y condensados, los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos, derivados del ácido cafeico (Quideau y col., 2011).

Se ha informado la presencia de fenoles tóxicos en la familia Anacardiaceae, los cuales serían una defensa de la planta frente al ataque de insectos herbívoros y hongos (Joel, 1980; Cojocar y col., 1986; Mitchell, 1990).

Respecto de los estudios fitoquímicos previos al realizado en este trabajo la información sobre los compuestos polifenólicos de *S. longifolius* es muy escasa (Frontera y Tomas, 1994).

El objetivo del trabajo abarca el estudio de las posibles variaciones del perfil de polifenoles asociados a la infestación por *Cecidoses eremita* de los tallos de *Schinus longifolius*.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

Se analizaron los tallos sanos y las agallas caulinares de seis ejemplares de *Schinus longifolius* infestados por *Cecidoses eremita* (Lepidoptera-Cecidosidae), recolectados en el barrio La Florida, Zárate, Provincia de Buenos Aires (febrero 2011). Todos los ejemplares se encontraban en el mismo estado fenológico. Tanto los insectos como las plantas fueron identificados por claves taxonómicas (Cabrera y Zardini, 1978; Burckhard y Basset, 2000).

Los ejemplares de referencia (Serie 2012 / N° 9; Serie 2012 / N° 10) se encuentran depositados en el herbario del Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez” FFyB-UBA.

### Obtención del extracto original metanólico (EOM)

Se partió de 200 mg de material seco y molido. La extracción se llevó a cabo con 10 mL de metanol acuoso al 80 %, a temperatura ambiente, durante 24 horas. Posteriormente se filtró y se descartó el

marco. El extracto así obtenido (EOM) fue utilizado en todos los ensayos.

#### *Análisis cualitativo de los polifenoles (fingerprint de polifenoles)*

Fue realizado por medio de cromatografías bidimensionales en capa delgada de celulosa (TLC y HPTLC), según la metodología estándar (Mabry y col., 1970, Markham, 1982).

Para el análisis bidimensional de los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos se empleó el sistema de solventes TBA (terbutanol-ácido acético-agua, 3:1:1) para la primera dimensión y ácido acético al 15 % para la segunda dimensión. Los cromatogramas se observaron a la luz ultravioleta ( $\lambda = 366$  nm) antes y después de ser expuestos a vapores de amoníaco. Posteriormente fueron revelados con el reactivo de productos naturales (NPR) (Wagner y Bladt, 1996) y luego observados nuevamente a la luz ultravioleta de 366 nm.

Se obtuvo así el patrón de distribución de los compuestos para el material en estudio que orientará acerca de su composición cualitativa.

#### *Cuantificación de los fenoles totales*

Fueron determinados mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Makkar y col. (1993).

Alicuotas (50  $\mu$ L) de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y el volumen llevado a 500  $\mu$ L con agua desionizada. Se adicionaron a continuación 250  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,25 mL de solución acuosa de carbonato de sodio al 20 %. Luego de 40 minutos la absorbancia fue medida a 725 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido tánico. Se empleó una solución madre de concentración 0,1 mg/mL, abarcando un rango de 2-10  $\mu$ g de ácido tánico en el volumen final de reacción. El contenido de los fenoles totales fue expresado como equivalentes de ácido tánico (mg ácido tánico/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

#### *Cuantificación de los taninos totales*

El contenido de los taninos totales fue determinado por el procedimiento de Folin-Ciocalteu, luego de remover los taninos mediante su precipitación con solución de seroalbúmina bovina (BSA) (bu-

ffer acetato 0,2 M pH 5,0; cloruro de sodio 0,17 M y 1,0 mg/mL de fracción V de BSA. (Ricco y col., 2011): 1 mL de solución de BSA fue adicionado a 1 mL de extracto. Luego de 15 minutos a temperatura ambiente, los tubos fueron centrifugados a 5.000 rpm. Alicuotas del sobrenadante (50  $\mu$ L) fueron analizadas según el procedimiento detallado para los fenoles totales. Los valores obtenidos fueron restados de los correspondientes a los fenoles totales y se obtuvo el total de fenoles que se comportan como taninos (taninos totales). El contenido de los taninos totales fue expresado como equivalentes de ácido tánico (mg ácido tánico/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

#### *Cuantificación de los taninos condensados (proantocianidinas, PA)*

Los taninos condensados fueron determinados mediante la reacción de la proantocianidina, según el método descrito por Ricco y col., 2011. Alicuotas de 0,50 mL de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y se agregaron 3,0 mL del reactivo butanol-HCl (butanol:HCl, 95:5 V/V) y 0,1 mL de reactivo férrico al 2 % (2 % sulfato férrico-amónico en HCl 2 M). Los tubos fueron agitados y puestos en ebullición a baño María durante 60 minutos. Luego de enfriarlos, se midieron las absorbancias a 550 nm contra un blanco. Las proantocianidinas se expresaron como absorbancia a 550 nm. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

#### *Cuantificación de los flavonoides totales*

Alicuotas de 0,1 mL de cada extracto fueron adicionadas a 1,4 mL de agua desionizada y 0,50 mL del reactivo de flavonoides (133 mg tricloruro de aluminio, 400 mg acetato de sodio en 100 mL de solvente constituido por 140 mL de metanol, 50 mL agua, 10 mL de ácido acético). Luego de 30 minutos a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 430 nm (Maksimovic y col., 2005). Se realizó una curva de calibración con rutina, que cubrió un rango de concentración entre 10 y 50  $\mu$ g/mL. El contenido de los flavonoides fue expresado como equivalentes de rutina (mg rutina/g material seco). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación de los ácidos hidroxicinámicos totales

Se determinó mediante una modificación de la metodología descrita por Dao y Friedman (1992). Alícuotas de 50  $\mu$ L de cada extracto fueron llevadas a volumen (2 mL) con etanol absoluto. Se determinó la absorbancia a 328 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido clorogénico (solución madre 1 mg/mL), que abarcó un rango de 5 - 40  $\mu$ g de ácido clorogénico en el volumen final de reacción. Los valores se expresaron como equivalentes de ácido clorogénico (mg de ácido clorogénico/g material seco). Los ensayos se realizaron por triplicado.

### Análisis microscópico

Con el objeto de realizar una determinación preliminar de la estructura de las agallas se realizaron disociados del material vegetal.

Partiendo de material fresco se realizaron disociaciones leves (NaOH 5 %) y fuertes (KOH 10 % y ácido crómico 25 %). El método de disociado leve consistió en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %, durante 5 min, a ebullición. Luego se enfrió y se lavó el material disociado con agua destilada y se observó con el microscopio. El disociado fuerte consistió en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de potasio,

durante 10 min, a ebullición. Se enfrió y se lavó con agua hasta la eliminación del hidróxido. Luego se agregó la solución de ácido crómico y se dejó actuar por una hora. Se lavó posteriormente con abundante agua y se observó con el microscopio.

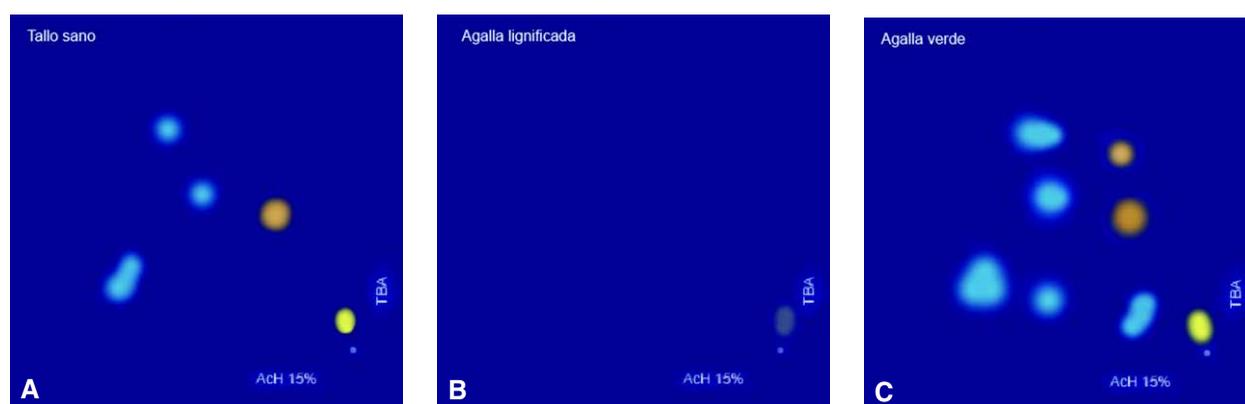
El disociado fue analizado mediante el empleo de microscopía de campo claro. Se empleó un microscopio Leitz-Wetzlar provisto de una cámara digital Canon EOS Rebel.

## Resultados

En el análisis del perfil cromatográfico bidimensional de los polifenoles se observa una variación cuali-cuantitativa, determinada por un aumento de estos metabolitos en los extractos provenientes de las agallas jóvenes, cuando se los compara con los provenientes de los tallos sanos. Puede observarse la presencia de dos grupos de compuestos principales: los flavonoides (compuestos amarillos y anaranjados) y los ácidos hidroxicinámicos (compuestos celestes) (revelador: NPR y UV 366 nm) (Figuras 1A, 1B y 1C).

Estos resultados son concordantes con los provenientes del análisis cuantitativo, donde las concentraciones de los fenoles totales, los taninos totales, los flavonoides totales y los ácidos hidroxicinámicos totales se ven aumentadas en los extractos derivados de las agallas jóvenes respecto de los tallos sanos.

**Figura 1.-** Perfiles cromatográficos bidimensionales de polifenoles

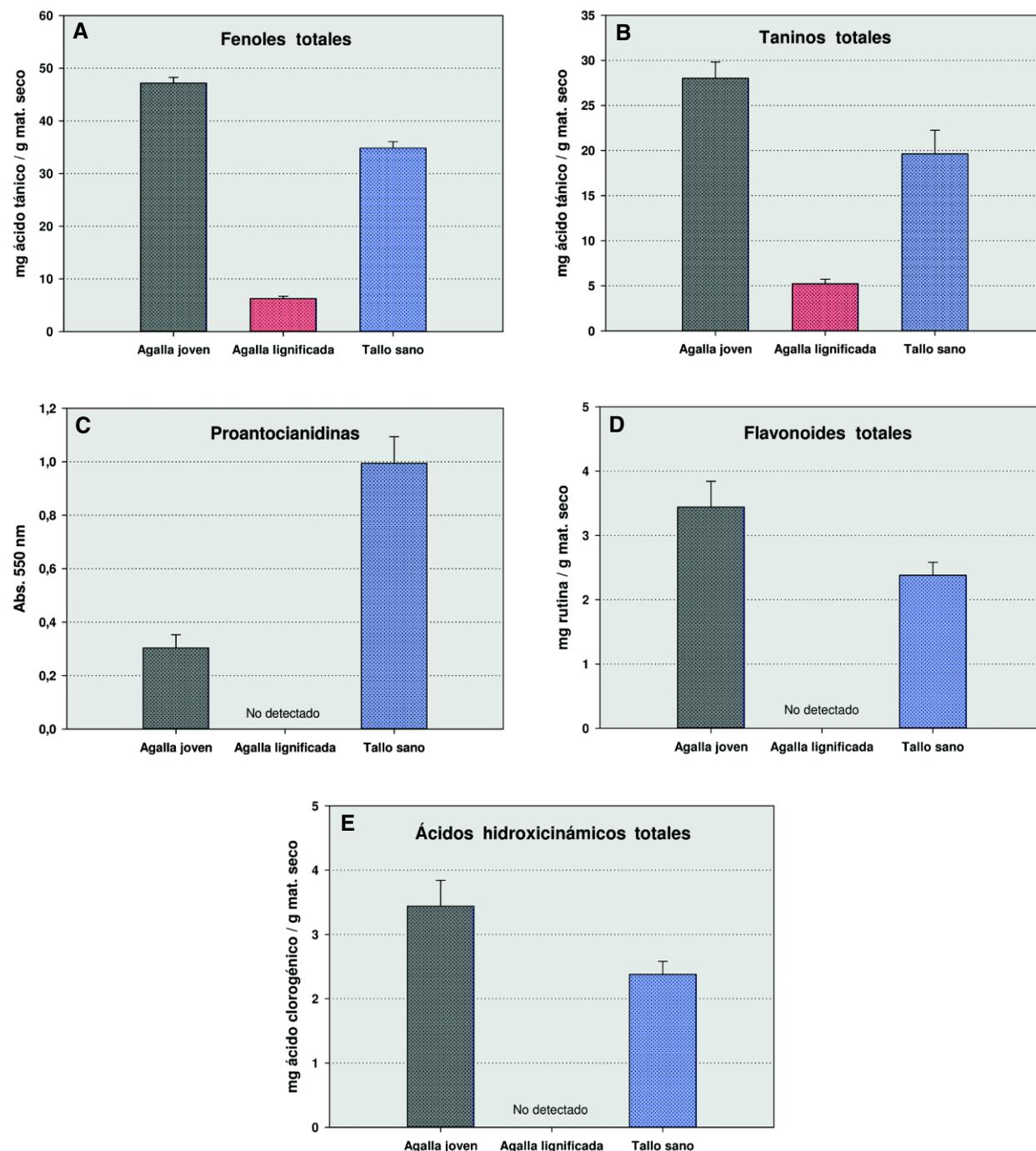


**A:** Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para el tallo sano. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada); **B:** Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para la agalla lignificada. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada); **C:** Perfil cromatográfico bidimensional de polifenoles para la agalla verde. Revelador: NPR - UV 366 nm (Foto digital, procesada).

Una situación opuesta se presenta en el análisis de los taninos condensados (proantocianidinas), donde las agallas jóvenes presentan concentraciones menores respecto de los tallos sa-

nos. En el análisis de las agallas lignificadas se determinaron los niveles más bajos de todos los compuestos polifenólicos analizados (Figuras 2A, 2B, 2C, 2D y 2E).

**Figura 2.-** Cuantificación de compuestos polifenólicos



**A:** Cuantificación de fenoles totales; **B:** Cuantificación de taninos totales; **C:** Cuantificación de proantocianidinas; **D:** Cuantificación de flavonoides totales; **E:** Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos totales. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desvío estándar.

En lo que respecta a la estructura de la agalla, presenta una estructura formada principalmente por esclereidas isodiamétricas (Figuras 3A y 3B), tejido parenquimático y tejido conductor, y no se observó la presencia de tricomas en su epidermis, elementos que sí se encuentran presentes en el tallo sano (Figura 4).

### Discusión

Si se realiza un análisis cuali-cuantitativo entre la agalla y el tallo sano, puede observarse que la agalla joven presenta mayor diversidad de compuestos (Figuras 1A y 1C) y mayores concentraciones de fenoles, taninos totales, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos respecto del tallo sano (Figuras 2A, 2B, 2D y 2E).

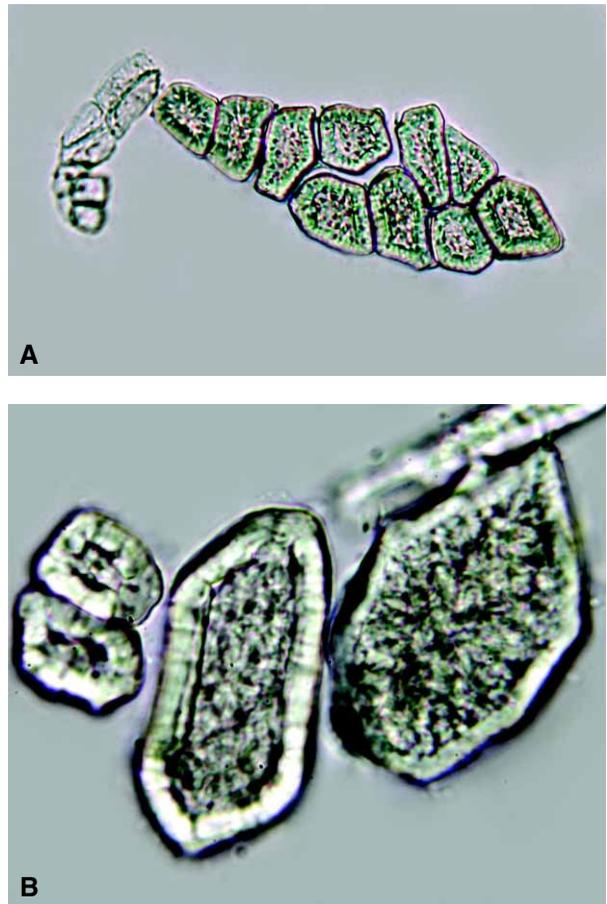
Una situación antagónica se presenta al analizar las proantocianidinas (taninos condensados), donde la agalla presenta niveles inferiores respecto del tallo sano (Figura 2C).

Cuando se analizó la agalla caulinar lignificada, presentó los valores más bajos de fenoles totales y no se detectaron proantocianidinas, flavonoides ni ácidos hidroxicinámicos, y correspondió a una estructura fuertemente lignificada que ya ha cumplido su ciclo en el desarrollo del insecto (Figuras 1B, 2A, 2B, 2C, 2D y 2E).

En el examen micrográfico la agalla presenta en su estructura un predominio de esclereidas (Figuras 3A y 3B), células de paredes gruesas y lignificadas, que actuarían protegiendo al insecto de condiciones abióticas desfavorables (*hipótesis microambiental*) (Cornell, 1983; Price y col., 1987; Blanche, 2000), como así también constituiría una estructura de protección contra los ataques de los enemigos naturales (*hipótesis del enemigo*) (Rossi y col., 1992; Zwölfer y Arnold-Rinehart, 1994; Abrahamson y Weis, 1997; Weis, 1982; Stone y col., 2002). Se sumaría además el aumento de metabolitos polifenólicos en la agalla, compuestos frecuentemente involucrados en los mecanismos de defensa química.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos para *Calophya mammifex* (Hemiptera-Psyloidea), puede determinarse un comportamiento opuesto, donde la agalla producida por *C. mammifex* presenta menores concentraciones de fenoles, taninos, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos y mayor concentración de

Figura 3.- Agalla



A: Disociado leve. Esclereidas. (100x); B: Agalla. Disociado fuerte. Esclereidas. (400x).

Figura 4.- Tallo sano



Disociado leve. Tricomas tectores unicelulares y glandulares de pie uni-bicelular y cabeza pluricelular. (100x).

proantocianidinas respecto de las hojas sanas (Agudelo y col., 2013). Si bien la agalla muestra menores concentraciones de taninos totales respecto de las hojas sanas, una gran parte de esos taninos corresponden a taninos condensados (proantocianidinas). La presencia de polifenoles de alto peso molecular en los tejidos de la agalla constituiría una importante barrera de protección para el insecto.

En el caso aquí analizado, la agalla inducida por *C. eremita* carece de esta característica defensiva en particular, donde esa función estaría mediada por la alta concentración de los demás metabolitos analizados.

Como se puede observar, los resultados obtenidos difieren claramente según el insecto involucrado, evidencia experimental que muestra que esa interacción no es de tipo inespecífica, ya que la expresión de los polifenoles es diferente en cada caso.

Por otro lado, es importante mencionar que distintos insectos inducen a menudo agallas morfológicamente diferentes en la misma planta y al mismo tiempo (Nyman y col., 2000; Stone y col., 2002).

## Conclusión

La infestación de los tallos de *Schinus longifolius* por *Cecidoses eremita* produce importantes cambios en el perfil de los polifenoles.

La dinámica de polifenoles de las agallas de *Schinus longifolius* no sería una respuesta general e inespecífica de la planta a la infección por insectos galígenos, dado que diferentes insectos originan diferentes respuestas.

Estos resultados toman relevancia cuando son analizados desde el punto de vista del control de calidad de una droga vegetal. Dado el empleo de esta especie como expectorante y purgante, las variaciones fitoquímicas observadas podrían traducirse en una modificación de la actividad farmacológica esperada.

## Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto UBACYT-20020100100459 (2011-2014).

## Referencias bibliográficas

- Abrahamson, W.G.; Weis, A.E. (1997). "Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrod, gall makers and natural enemies" en *Monographs in population biology*. Princeton University Press: 3-13.
- Agudelo, I.; Wagner, M.L.; Gurni, A.A.; Ricco, R.A. (2013). "Dinámica de polifenoles y estudio anatómico-histoquímico en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infección por *Calophya mammifex* (Hemiptera - Calophyidae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(2): 162-175.
- Blanche, K.R. (2000). "Diversity of insect-induced galls along a temperature-rainfall gradient in the tropical savannah region of the Northern territory, Australia". *Australian Ecology* 25: 311-318.
- Bronner, R. (1977). "Contribution à l'étude histochemique des tissus nourriciers des zooecidies". *Marcellia* 40: 1-134.
- Burckhard, D.; Basset, Y. (2000). "The jumping plant-lice (Hemiptera, Psylloidea) associated with *Schinus* (Anacardiaceae): systematics, biogeography and host plant relationships". *Journal of Natural History* 34: 57-15.
- Cabrera, A.L.; Zardini, E.M. (1978). *Manual de las plantas de los alrededores de Buenos Aires*. Editorial Acme. Buenos Aires: 1-755.
- Cornell, H.V. (1983). "The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae. Why and how?". *American Midland Naturalist* 110(1): 225-234.
- Cojocar, M.; Droby, S.; Glotter, E.; Goldman, A.; Gottlieb, H.E.; Jacoby, B.; Prusky, D. (1986). "5-(12-Heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in the peel of mango fruit". *Phytochemistry* 25: 1093-1095.
- Dao, L.; Friedman, M. (1992). "Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2152-2150.
- Frontera M.A.; Tomás M.A. (1994). "Estudio Químico de la planta *Schinus longifolius* L.". *Anales de la Asociación Química Argentina*. 82(5): 365-370.
- Harbone, J.B.; Williams, C. (2000). "Advances in

- flavonoid research since 1992". *Phytochemistry* 55: 481-504.
- Hartley, S.E.; Lawton, J.H. (1992). "Host-plant manipulation by gall-insects: a test of the nutrition hypothesis". *Journal of Animal Ecology* 61(1): 113-119.
- Hartley, S.E. (1998). "The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former?". *Oecologia* 113: 492-501.
- Joel, D.M. (1980). "Resin ducts in the mango fruit: a defense system". *Journal of Experimental Botany* 31: 1707-1718.
- Khare, C.P. (2007). *Indian Medicinal Plants*. Ed. Springer-Verlag. Berlin/Heidelberg: 1-836.
- Lahitte, H.B.; Hurrell, J.A.; Belgrano, M.L.; Jankowski, L.S.; Haloua, M.P.; Mehlreter, K. (1998). *Plantas medicinales Rioplatenses*. LOLA. Buenos Aires: 1-240.
- Mabry, T.J.; Markham, K.R.; Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of the Flavonoids*. Springer-Verlag. Berlin and New York: 1-175.
- Makkar, H.P.S.; Bluemmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. (1993). "Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61: 161-165.
- Maksimovic, Z.; Malencic, D.; Kovacevic, N. (2005). "Polyphenol contents and antioxidant activity of Mayadis stigma extracts". *Bioreserch Technology* 96: 873-877.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press. London: 1-113.
- Matsuki, M. (1996). "Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution". *Australian Journal of Botany* 44: 613-634.
- Meyer, J. (1987). *Plant Galls and Gall Inducers*. Gebrüder Borntraeger (ed.). Berlin, Stuttgart: 291.
- Mitchell, J.D. (1990). "The poisonous Anacardiaceae genera of the world". *Advances in Economic Botany* 8: 103-129.
- Nyman T.; Widmer, A.; Roininen, H. (2000). "Evolution of gall morphology and host-plant relationships in willow-feeding sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae)". *Evolution* 54(2): 526-533.
- Price, P.W.; Fernandes, G.W.; Waring, G.L. (1987). "Adaptive nature of insect galls". *Environmental Entomology* 16(1): 15-24.
- Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységu, L. (2011). "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities and synthesis". *Angewante Chemie International Edition* 50(3): 586-621.
- Ricco, R.A.; Agudelo, I., Garcés, M., Evelson, P., Wagner, M.L.; Gurni, A.A. (2011). "Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10(4): 325-332.
- Rossi, A.M.; Stiling, P.D.; Strong, D.R.; Johnson, D.M. (1992). "Does gall diameter affect parasitism of *Asphondylia borrichiae* (Diptera: Cecidomyiidae)?" *Ecological Entomology* 17: 149-154.
- Shorthouse, J.D. (1986). "Significance of nutritive cells in insect galls". *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 88: 368-375.
- Simmonds, M. (2001). "Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition". *Phytochemistry* 56: 451-252.
- Simmonds, M. (2003). "Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge". *Phytochemistry* 64: 21-30.
- Stone, G.N.; Schönrogge, K.; Atkinson, R.J.; Bellido, D.; Pujade-Villar, J. (2002). "The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera -Cynipidae)". *Annual Review of Entomology* 47: 633-668.
- Stone, G.; Schönrogge, K. (2003). "The adaptative significance of insect gall morphology". *Trends in Ecology and Evolution* 18: 512-522.
- Wagner, H; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis*. 2<sup>nd</sup> Ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 362
- Waterman, P.G.; Mole, S. (1994). *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications (ed.). Cambridge, MA, USA: 45-65.
- Weis, A.E. (1982). "Use of a symbiotic fungus by the gall maker *Asteromyia carbonifera* to inhibit attack by the parasitoid *Torymus capite*". *Ecology* 63: 1602-1605.
- Zwölfer, H.; Arnold-Rinehart, J. (1994). "Parasitoids as a driving force in the evolution of the gall size of *Urophora* on *Cardueae* hosts" en *Plant Galls: Organisms, Interactions, Populations*. Williams, M.A.J. (ed) Clarendon Press: 245-257.