



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

**EFFECTO DE LA INDUCCIÓN DE AGALLAS EN LA DISTRIBUCIÓN,
COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE POLIFENOLES DE
*Schinus polygama***

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la
Universidad de Concepción para optar al título profesional de
Ingeniera en Biotecnología Vegetal

POR: Scarleth Miyarai Tapia Rojas

Profesora Guía: Dra. Lubia M. Guedes García

Enero, 2026


Concepción, Chile

© 2026, Scarleth Miyarai Tapia Rojas

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

**EFFECTO DE LA INDUCCIÓN DE AGALLAS EN LA DISTRIBUCIÓN,
COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE POLIFENOLES DE
*Schinus polygama***

Profesora Guía



Lubia M. Guedes García

Colaboradora externa

Licenciada en Biología, Dra.

Profesor Guía



Narciso Aguilera Marín

Profesor asociado

Ingeniero Agrónomo, Dr.

Profesor Guía



Elvis H. Gavilán Gutiérrez

Profesor asistente

Licenciado en Matemática, Dr.

DEDICATORIA

A mis padres que me enseñaron a amar la naturaleza, me criaron con empatía y humildad. Nunca me cortaron las alas y me permitieron cumplir mis sueños, apoyándome en cada paso que he dado, su amor me sostuvo en los momentos más difíciles.

A mi hermana por inspirarme y mostrarme el mundo, aconsejándome y acompañándome toda la vida, dándome valentía para salir de mi ciudad.

A mi abuela por su cuidado, preocupación y amor en cada cosa que me mandó para acompañarme donde estuviera, ayudándome a sobrellevar la distancia de mi hogar.

A mis perritos, Cabo y Lucky. Su compañía me reconfortó cada vez que lo necesité y me dio más motivos para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Mi eterna gratitud a las personas que conocí en este camino, compañeros, auxiliares, encargados y asistentes de los distintos laboratorios, tías y tíos del casino y profesores. Gracias a todas y todos por sus palabras y compañía en estos 5 años. Agradezco a los amigos que conocí en la universidad, por ayudarme a crear una familia lejos de mi casa, cada momento, risa y consejo ayudó a sobrellevar los momentos difíciles y crear hermosos recuerdos. Especialmente a mis mejores amigos Catalina, Samuel, Lucho y Maciel.

Gracias totales al equipo del Laboratorio de Semioquímica Aplicada, que me recibió con los brazos abiertos y me hizo sentir en casa desde el primer momento. Agradezco a mis compañeras y compañeros de laboratorio, que muchas veces dedicaron su tiempo para ayudarme en distintas etapas de mi investigación y me dieron sus consejos desde la experiencia.

Agradezco muchísimo a mi profesora guía Lúbia Guedes, que fue un gran apoyo en mi formación profesional y personal, aconsejándome y cuidándome desde mi segundo año.

Gracias a mi profesor guía Narciso Aguilera, por permitirme entrar a su laboratorio y motivarme a ser una buena líder, con sus palabras de ánimo y apoyo incondicional.

Agradezco a mi profesor guía y jefe de Carrera, Elvis Gavilán, por su paciencia, disposición y dedicación al ayudarme en mis análisis estadísticos, enseñándome a hacer las cosas como una profesional, sin dejar la humanidad de lado.

Gracias a todas y todos por complementar mi formación, y estar de alguna u otra forma en este tiempo, los llevo en mi corazón para siempre.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. METODOLOGÍA	7
2.1 Descripción del área de estudio.....	7
2.2 Recolección de muestras.....	8
2.3 Estudios espectrofotométricos	11
2.4 Preparación de extractos fenólicos.....	11
2.5 Concentración de fenoles solubles totales.....	12
2.6 Concentración de flavonoides solubles totales.....	13
2.7 Identificación de compuestos fenólicos por HPLC.....	14
2.8 Histolocalización de polifenoles	15
2.9 Evaluación de la actividad antioxidante.....	16
2.10 Análisis estadísticos.....	17
III. RESULTADOS.....	19
3.1 Concentración de fenoles solubles totales.....	19
3.2 Contenido de flavonoides.....	20
3.3 Perfil y concentración de compuestos fenólicos.....	21
3.4 Evaluación de la actividad antioxidante	25
3.4.1 Inhibición del radical ABTS	25
3.4.2 Inhibición del radical DPPH.....	27
3.5 Histolocalización de polifenoles	29
IV. DISCUSIÓN.....	33
V. CONCLUSIONES.....	37
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Tratamientos y controles del estudio con su correspondiente abreviatura.....	8
Tabla 3.1. Concentraciones de grupos de compuestos fenólicos en hojas y tallos de <i>S. polygama</i> bajo distintas condiciones.....	22
Tabla 3.2. Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de tallos y hojas de <i>S. polygama</i> a tres concentraciones distintas para eliminar el radical ABTS.....	26
Tabla 3.3. Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de tallos y hojas de <i>S. polygama</i> a tres concentraciones distintas para eliminar el radical DPPH.....	28

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Fig. 2.1. Vista aérea del sitio de muestreo en la Región de Ñuble.	8
Fig. 2.2. Aspecto general del sitio de muestreo. A-B) Individuos adultos y juveniles de <i>S. polygama</i> (Cav). Cabrera (Anacardiaceae) bordeando un predio agrícola. C) Agallas en tallo inducidas por <i>C. rubra</i> Blanchard, D) Agallas foliares inducidas por <i>C. mammifex</i> Burckhardt & Basset	9
Fig. 3.1. Concentración de fenoles solubles totales en órganos de <i>S. polygama</i> bajo distintas condiciones. A) Contenido de fenoles totales en hojas. B) Contenido de fenoles totales en tallos	19
Fig. 3.2. Concentración de flavonoides solubles totales en órganos de <i>S. polygama</i> bajo distintas condiciones. A) Contenido de flavonoides totales en hojas. B) Contenido de flavonoides totales en tallos	21
Fig. 3.3. Mapa de calor (<i>heatmap</i>) y agrupamiento jerárquico de compuestos fenólicos en hojas y tallos de <i>S. polygama</i> bajo distintas condiciones	23
Fig. 3.4. Histolocalización de polifenoles y flavonoles en hojas de <i>S. polygama</i> . A-B) Polifenoles detectados en hojas sin agallas. C-E) Acumulación de polifenoles en agallas. F-G) Flavonoles en hojas sin agallas. H-J) Reacción positiva de flavonoles en agallas	30
Fig. 3.5. Histolocalización de polifenoles y flavonoles en tallos de <i>S. polygama</i> . A-B) polifenoles detectados en tallos sin agallas (RS y RC). C-E) Acumulación de	

polifenoles en agallas. F-G) Flavonoles visualizados en tallos sin agallas (RS y RC). H-J) Reacción positiva de flavonoles en agallas
..... 32

RESUMEN

Las agallas vegetales constituyen estructuras altamente especializadas inducidas por organismos gallícolas, caracterizadas por profundas modificaciones anatómicas, fisiológicas y metabólicas en los tejidos del hospedero. En conjunto, estos cambios podrían afectar la actividad biológica de especies medicinales como *Schinus polygama*, conocida por ser un superhospedero de agallas. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar los cambios en el contenido, perfil químico, distribución tisular y actividad antioxidante de fenoles y flavonoides inducidos por *Calophya mammifex* y *C. rubra* en hojas y tallos de *Schinus polygama*. Se cuantificaron fenoles y flavonoides solubles totales y la actividad antioxidante a través de métodos espectrofotométricos. Adicionalmente se identificaron compuestos fenólicos a través de HPLC-DAD y se determinó la distribución espacial de polifenoles y flavonoles mediante técnicas histoquímicas. Los resultados evidenciaron una respuesta órgano-específica frente a la inducción de agallas, con una disminución del contenido de fenoles en hojas de ramas afectadas y un aumento significativo de flavonoides en tallos con agallas. El perfil fenólico se modificó cualitativa y cuantitativamente, observándose la acumulación de metabolitos inducidos y firmas químicas distintivas en las agallas. Estas modificaciones se asociaron con un incremento de la actividad

antioxidante de las agallas y una redistribución tisular de polifenoles hacia regiones internas de la agalla, particularmente en torno a la cámara ninfal. En conjunto, los resultados demuestran que la inducción de agallas por *C. mammifex* y *C. rubra* implica una reprogramación metabólica de hojas y tallos de *S. polygama* que incide en la capacidad antioxidante y propiedades biológicas de la especie, posicionando esta interacción como un modelo relevante para el estudio biotecnológico de la regulación de rutas fenólicas y de respuestas antioxidantes en tejidos vegetales.

Palabras clave: actividad antioxidante, agallas vegetales, flavonoides insectos gallícolas, polifenoles.

ABSTRACT

Plant galls are highly specialized structures induced by galling organisms, characterized by profound anatomical, physiological, and metabolic modifications in host tissues. Collectively, these changes could affect the biological activity of medicinal species such as *Schinus polygama*, known for being a gall superhost. This study aimed to evaluate the changes in the content, chemical profile, tissue distribution, and antioxidant activity of phenols and flavonoids induced by *Calophya mammifex* and *C. rubra* in the leaves and stems of *S. polygama*. Total soluble phenols and flavonoids, as well as antioxidant activity, were quantified using spectrophotometric methods. Additionally, phenolic compounds were identified via HPLC-DAD, and the spatial distribution of polyphenols and flavonols was determined through histochemical techniques. The results revealed an organ-specific response to gall induction, with a decrease in phenolic content in leaves from affected branches and a significant increase in flavonoids in galled stems. The phenolic profile was modified both qualitatively and quantitatively, showing the accumulation of induced metabolites and distinctive chemical signatures within the galls. These modifications were associated with an increase in the antioxidant activity of the galls and a tissue redistribution of polyphenols toward internal regions of the gall, particularly surrounding the nymphal chamber. Taken together, these results demonstrate that gall induction by *C. mammifex* and *C. rubra* involves a metabolic reprogramming of *S. polygama* leaves and stems

that impacts the antioxidant capacity and biological properties of the species, positioning this interaction as a relevant model for the biotechnological study of phenolic pathway regulation and antioxidant responses in plant tissues.

Keywords: antioxidant activity, flavonoids, galling insects, plant galls, polyphenols.

I. INTRODUCCIÓN

La diversidad de especies que alberga el bosque esclerófilo chileno es única, debido a su alto grado de endemismo y aislamiento geográfico, por lo que es considerado actualmente como un *hotspot* de la biodiversidad (Echeverría *et al.*, 2006; Quintero *et al.*, 2014). Entre las especies que cohabitan en este tipo de bosque se encuentra *Schinus polygama* Cabrera (Anacardiaceae), un arbusto siempre verde, dioico, con una altura de hasta 3,5 m. Este arbusto es nativo de la región templada de Sudamérica, presente en Argentina, Brasil, Chile, Perú y Uruguay (Rodríguez *et al.*, 2018). Sus frutos son comestibles y se utilizan en infusiones para tratar la artritis e infecciones microbianas. Presentan un alto contenido de flavonoides, biflavonoides, triterpenos, taninos, antocianinas, ácidos fenólicos y aceites volátiles, entre otros compuestos, reconocidos por su efecto antiinflamatorio, antibiótico, analgésico y antipirético (Erazo *et al.*, 2006; Damasceno *et al.*, 2010; Chamorro & Ladio, 2020; El-Nashar *et al.*, 2020). Además de tener un alto valor nutricional, los frutos de *S. polygama* son utilizados en la Patagonia para elaborar “chicha”, mientras que las ramas y corteza se utilizan como leña (Chamorro & Ladio, 2020; Abdelghffar *et al.*, 2022).

La producción de los metabolitos secundarios en las plantas depende de varios factores como tipo de órgano, etapa fisiológica, variación estacional, condiciones climáticas, variación geográfica, factores exógenos y factores genéticos (Figueiredo *et al.*, 2008). La herbívora es un factor biótico que desencadena mecanismos de defensa que puede incluir a varios metabolitos secundarios y

fitohormonas como citoquininas o jasmonatos (Pavarini *et al.*, 2012; Giron *et al.*, 2013; Buchanan *et al.*, 2015). El daño mecánico o químico producido por la inyección de sustancias presentes en la saliva de los herbívoros como proteínas o fitohormonas (Dias *et al.*, 2013; Oates *et al.*, 2016), inducen en los órganos vegetales la producción *de novo* de metabolitos secundarios (Figueiredo *et al.*, 2008; Isah, 2019). Un caso especial es la respuesta metabólica que inducen los insectos gallícolas en el órgano y planta hospedera. La inducción de agallas puede estimular o inhibir la síntesis de metabolitos secundarios (Nyman y Julkunen-Tiitto, 2000; Oliveira *et al.*, 2006, Guedes *et al.*, 2016; Jorge *et al.*, 2018) o producir la síntesis *de novo* de otros metabolitos (Guedes *et al.*, 2016, Jorge *et al.*, 2018) para la protección y nutrición del gallícola (Price *et al.*, 1987). En el caso de *S. polygama*, estudios anteriores indican que la composición de metabolitos secundarios, especialmente fenoles y flavonoides, es afectado por la presencia de diferentes morfotipos de agallas en sus órganos aéreos (Guedes *et al.*, 2016, Guedes *et al.*, 2019, Guedes *et al.*, 2025).

Schinus polygama es reconocido por ser un superhospedero de agallas (Guedes *et al.*, 2016), ya que al menos dos órdenes de insectos inducen agallas en sus órganos aéreos, incluyendo Hemiptera (Psylloidea) y Lepidoptera (Cecidosidae) (Sáiz & Núñez, 1997; Burckhardt & Basset, 2000; Moreira *et al.*, 2012). En Chile se ha reportado la presencia de cuatro especies de insectos que inducen agallas en *S. polygama* (Guedes *et al.*, 2016). De estas, las más frecuentes son *Andescecidium parrai* Moreira & Vargas (Lepidoptera, Cecidosidae), *Calophya*

rubra Blanchard y *C. mammifex* Burckhardt & Basset (Hemiptera, Psylloidea, Calophyidae), las que se asocian con agallas en yemas laterales, tallos y hojas respectivamente (Damasceno *et al.*, 2010; Guedes *et al.*, 2018a; Guedes *et al.*, 2023).

El morfotipo de agalla inducido por *A. parrai* en yemas laterales es del tipo globoide y alberga una sola larva. Internamente la agalla está organizada en tejidos especializados alrededor de la cámara larval, como tejido nutritivos, parénquima de reserva, esclerénquima y tejido vascular (Guedes *et al.*, 2023). En el caso de *C. rubra* induce agallas cónicas en los tallos, mientras que *C. mammifex* induce agallas globoides en hojas, ambas albergan a una sola ninfa. En ambas especies de *Calophya* se induce una sobreproducción de floema y tejido parenquimático, formando zonas similares a tejidos nutritivos que acumulan azúcares, lípidos y proteínas esenciales para la nutrición de la ninfa y el mantenimiento estructural de la agalla (Guedes *et al.*, 2018a, b).

Resultados recientes indican que *C. rubra* y *C. mammifex* influyen en la distribución y síntesis de polifenoles y flavonoides en hojas y tallos de *S. polygama* (Guedes *et al.*, 2019; Guedes *et al.*, 2025). Por ejemplo, el establecimiento de las dos especies de calófidos conduce a una disminución significativa en el contenido total de fenoles durante el desarrollo de las agallas, en comparación con los órganos sin agallas de la planta hospedera, aunque con dinámicas contrastantes. El contenido de polifenoles disminuye en las agallas

foliares, pero aumenta en las agallas del tallo a medida que avanzan desde la maduración hacia la senescencia (Guedes *et al.* 2019). De forma similar, la presencia de *C. rubra* y *C. mammifex* influye en los contenido y sitios de acumulación de flavonoides en hojas y tallos sin agallas (Guedes *et al.*, 2025). En las hojas sin agallas, los flavonoides se detectaron en las células epidérmicas, el parénquima en empalizada y esponjoso, y en los tejidos vasculares. En las agallas foliares, los flavonoides se detectaron en todos los tejidos de la agalla, con una acumulación intensa en las capas internas del tejido y en algunas células de las capas intermedias, y con menor acumulación en las capas externas. En los tallos sin agallas, los flavonoides se almacenaron en células corticales, células del floema parenquimático, células de los radios medulares y células de la médula (Guedes *et al.*, 2025). Sin embargo, en las agallas del tallo, la intensidad de la reacción fue menor, y los flavonoides se observaron principalmente como inclusiones citoplasmáticas en las células internas, con una detección esporádica en las vacuolas de las células externas, pero no en las células vasculares. Estos hallazgos evidencian una reducción del contenido total de flavonoides, al igual que de fenoles totales, durante la maduración de las agallas en comparación con los tejidos sin agallas. Este resultado sugiere que ambas especies de insectos inductores de agallas podrían alterar los niveles de flavonoides en *S. polygama*, lo que podría influir en la actividad biológica previamente reportada para la especie y en su potencial como eliminadores de

especies reactivas de oxígeno (ROS), aunque se requiere una confirmación adicional.

A pesar de estos datos, aún se desconoce si los cambios en los contenidos de fenoles y flavonoides, de forma individual o combinada, se traducen en modificaciones del perfil de polifenoles y de la actividad antioxidante de los tejidos de la planta hospedera. Para profundizar en estas lagunas de conocimiento, planteamos como hipótesis que la inducción de agallas por *C. mammifex* y *C. rubra* en tallos y hojas de *S. polygama* provoca alteraciones en la síntesis y distribución de fenoles y flavonoides, lo que impacta diferencialmente la capacidad antioxidante de los órganos afectados en comparación con los órganos sin agallas.

Objetivo general: Determinar las alteraciones en el perfil y distribución de fenoles y flavonoides inducidas por los gallícolas *C. mammifex* y *C. rubra* en las hojas y tallos de *S. polygama* y su efecto sobre la actividad antioxidante de la planta hospedera.

Objetivos específicos:

1. Evaluar las alteraciones inducidas por *C. mammifex* y *C. rubra* en la distribución, concentración y perfil de fenoles y flavonoides de hojas y tallos de *S. polygama*.
2. Determinar el efecto de los dos insectos inductores de agallas en la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de la planta hospedera.

II. METODOLOGÍA

2.1 Descripción del área de estudio

El sitio de muestreo se encuentra dentro de un relicto de matorral esclerófilo en el valle central de Chile, en la comunidad de San José del Baúl (36° 47' 27.3" S, 72° 26' 22.2" O, 89 m s. n. m.) Quillón, Región de Ñuble (Fig. 2.1). Este fragmento forestal está dominado principalmente por árboles adultos de *Vachellia caven* (Molina) Seigler & Ebinger (Fabaceae) y *S. polygama*, insertos en una matriz agrícola y rodeados de plantaciones de *Pinus radiata* D. Don. La comuna presenta un clima templado cálido con lluvias invernales y predominio de clima mediterráneo en el sector del valle.

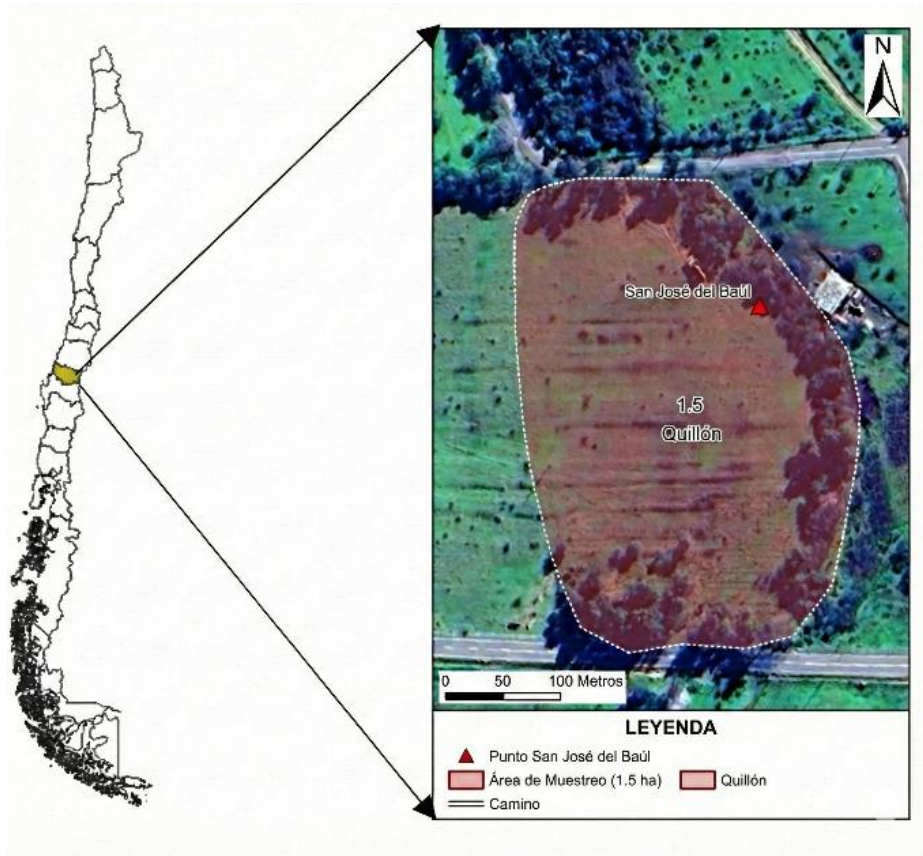


Fig. 2.1. Vista aérea del sitio de muestreo en la Región de Ñuble. Producción propia a partir de imagen satelital de Google Earth (2024).

2.2 Recolección de muestras

En el sitio de muestreo se seleccionaron (Fig. 2.2A, B) aleatoriamente siete árboles de *S. polygama* ($n = 7$) de aproximadamente 3-4 m de altura y similar edad fisiológica, con ramas laterales que presentaban agallas de tallo inducidas por *C. rubra* (Fig. 2.2C) y agallas foliares de *C. mammifex* y (Fig. 2.2D).



Fig. 2.2. Aspecto general del sitio de muestreo. A-B) Individuos adultos y juveniles de *S. polygama* (Cav). Cabrera (Anacardiaceae) bordeando un predio agrícola. C) Agallas en tallo inducidas por *C. rubra* Blanchard, D) Agallas foliares inducidas por *C. mammifex* Burckhardt & Basset.

Durante las observaciones de campo en poblaciones de *S. polygama* afectadas por insectos inductores de agallas, incluidas las de este estudio, se ha observado que todos los árboles están infestados por insectos gallícolas, lo que hace que los árboles sin agallas no sean adecuados como controles. Por ello, se consideró como control las ramas sin agallas de un árbol infestado; es decir, aquellas donde no se observó ningún morfotipo de agalla. Como tratamientos se consideraron

ramas con agallas de tallos y hojas, donde se seleccionaron como control los tallos y hojas que no estuvieran afectadas (Tabla 2.1). En cada árbol se recolectaron cinco ramas con y sin agallas (n = 5 por cada condición). Los estudios se llevaron a cabo durante la etapa de maduración de cada agalla, ya que esta fase es la principal etapa trófica del inductor y generalmente está asociada con la fase final del desarrollo de la agalla.

Tabla 2.1. Tratamientos y controles del estudio con su correspondiente abreviatura.

Tipos de ramas	Órganos	Abreviaturas
Rama con agallas (RC)	Agalla de hoja	AgH
	Agalla de tallo	AgT
	Hojas sin agallas	HRA
	Tallos sin agallas	TRA
Rama sin agallas (RS)	Hojas sin agallas	HRS
	Tallos sin agallas	TRS

Las ramas laterales se recolectaron entre los 1,2 y 2,0 m de altura, garantizando que fueran ramas del crecimiento del año. Debido al grado de ramificación de *S. polygama* se eligieron ramas terciarias (ramillas), ya que son más cortas y delgadas en comparación con las ramas secundarias. La posición de estas

ramillas dentro de la rama secundaria dependió de la presencia o ausencia de los dos morfotipos de agallas. En condiciones de laboratorio las muestras se separaron por condición (Tabla 2.1) y se destinaron a estudios histoquímicos y cuantitativos. Todos los órganos recolectados tenían la misma edad fisiológica debido a los ciclos de vida de los insectos (univoltino).

2.3 Estudios espectrofotométricos

Todas las mediciones espectrofotométricas involucradas en el estudio se realizaron en un lector de microplacas (Epoch 800 TS, BioTek, EE. UU.). Estos análisis se realizaron por triplicado, incluyendo los blancos correspondientes según las pautas metodológicas.

2.4 Preparación de extractos fenólicos

El material vegetal recién recolectado y separado por condición (Tabla 2.1), aproximadamente 1 g de cada órgano, se secó a 40°C en estufa y se trituró en molino eléctrico IKA (A11 basic, Alemania) en el caso de los tallos y agallas de tallo, o en un homogeneizador de tejidos automatizado SPEX (1600 MiniG, Shanghai) para el resto de los órganos. Los órganos molidos se maceraron en

metanol 80% (Guedes *et al.*, 2022) a razón de 100 mg mL^{-1} , se agitaron en vortéx por 30 s, se sonificaron en baño ultrasónico (Powersonic 603, 3,3 L, Hwashin Technology Co., Corea del Sur) por 20 min sin temperatura y se dejaron en extracción por 24 h en oscuridad y a temperatura ambiente. El proceso se repitió dos veces. Posteriormente, se extrajo el sobrenadante de los extractos con una micropipeta, se unieron, filtraron y almacenaron a -23°C hasta su análisis.

2.5 Concentración de fenoles solubles totales

La concentración de polifenoles solubles totales de cada órgano (Tabla 2.1) se determinó utilizando el método de Folin–Ciocalteu, siguiendo el método descrito por Attard (2013). De cada extracto se tomó una alícuota de $10 \mu\text{L}$ y se mezcló con $20 \mu\text{L}$ del reactivo de Folin–Ciocalteu y $200 \mu\text{L}$ de agua. La reacción se homogenizó durante 30 segundos y se incubó por 5 min en oscuridad. Posteriormente, se agregaron $100 \mu\text{L}$ de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 15%. La mezcla se agitó durante 30 s y se incubó a temperatura ambiente y oscuridad por 1 h. La absorbancia se midió a 765 nm contra un blanco de metanol 80%. La concentración de polifenoles solubles totales se calculó en base a una curva de calibración de ácido gálico (1 mg mL^{-1}). Los resultados fueron expresados como microgramos equivalentes de ácido gálico (EAG) por miligramo de peso seco ($\mu\text{g GAE mg}^{-1} \text{ PS}$).

2.6 Concentración de flavonoides solubles totales

El procedimiento de cuantificación de flavonoides totales se realizó por el método del complejo de aluminio, utilizándose cloruro de aluminio (AlCl_3), según lo descrito por Kim *et al.* (2003). A cada extracto se le añadieron 7,5 μL de nitrito de sodio (NaNO_2) al 5 %, se homogeneizó la mezcla y se dejó reaccionar durante 5 min. Posteriormente, se incorporaron 30 μL AlCl_3 al 2,5 %, se homogenizó nuevamente y se dejó reaccionar por 6 min. Posteriormente, se añadieron 50 μL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M y 50 μL de agua destilada, se homogenizó la mezcla y se dejó reaccionar por otros 5 min. La absorbancia se midió a 510 nm contra un blanco de metanol 80%. La concentración se calculó con base en una curva estándar de quercetina (1 mg mL^{-1}) y se expresó como microgramos equivalentes de quercetina (EQ) por mg de peso seco ($\mu\text{g de EQ mg}^{-1} \text{ PS}$).

2.7 Identificación de compuestos fenólicos por HPLC

Los extractos metanólicos de AgH, AgT, HRA, HRS, TRA, TRS (1,5 mL de cada extracto a concentración de 50 mg mL⁻¹) se filtraron a través de filtros de jeringa y se utilizaron para la cuantificación e identificación de compuestos polifenólicos a través de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). De cada extracto se tomaron 10 µL e inyectaron en un HPLC con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD, Hitachi Primaide, Tokio, Japón). El equipo HPLC contiene una columna Kromasil® C18 y la separación se realizó con una fase móvil compuesta por ácido fórmico al 1 % en agua (A) y acetonitrilo (B), a un flujo constante de solvente de 1 mL min⁻¹. El detector se configuró a 250, 280, 320 y 360 nm. Para determinar la concentración de los compuestos se realizaron curvas de calibración utilizándose estándares de alta pureza: ácido p-hidroxibenzoico, ácido vainílico, 3,4-dimetoxifenol, ácido gálico, ácido clorogénico, quercetina 3-rutinósido y quercetina. Cada muestra se inyectó por triplicado y la concentración de los compuestos se expresó como miligramos por mililitros (mg mL⁻¹).

2.8 Histolocalización de polifenoles

Las muestras de tallos y hojas de cada condición (AgT, TRA, AgH, HRA, TRS, HRS, Tabla 2.1) se cortaron en segmentos de 1,5 cm de ancho (n = 5 por condición) y se fijaron en benzoato de sodio-cafeína al 0,5% por 48 h para la detección de flavonoles. Las muestras se lavaron en agua destilada y se cortaron a mano alzada. Los cortes se colocaron en una solución de 4-dimetilaminocinamaldehído al 1% durante 2 h a temperatura ambiente (Feucht *et al.*, 1986). Los flavonoles se detectaron en color violeta oscuro.

De forma similar, las AgT, TRA, AgH, HRA, TRS, HRS se cortaron en segmentos de 1,5 cm de ancho (n = 5 por condición) y se fijaron en sulfato ferroso y formalina (37 % de formaldehído y 0,1 g L⁻¹ de sulfato ferroso heptahidratado) (Johansen, 1940) para la detección de polifenoles. Pasadas 72 h, las hojas se lavaron en agua destilada y se cortaron a mano alzada. Los fenoles se detectaron por la formación de precipitados de color oscuro. Las secciones teñidas para flavonoles y fenoles totales se observaron y fotografiaron en microscopio óptico (Leica DM500, Wetzlar, Germany), acoplado a una cámara digital (Leica ICC50 HD) junto a sus respectivos blancos.

2.9 Evaluación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de cada órgano (Tabla 2.1) a tres concentraciones distintas (1 mg mL^{-1} ; 50 mg mL^{-1} y 100 mg mL^{-1}) se evaluó mediante los métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Singh *et al.*, 2016) y ABTS (ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (Re *et al.*, 1999). Para medir la capacidad antioxidante de los extractos para eliminar el radical DPPH•, se mezclaron $180 \mu\text{L}$ de radical activado (DPPH en $0,6 \text{ mM}$ en metanol) con $20 \mu\text{L}$ de cada extracto a las tres concentraciones en estudio. Como control negativo se utilizó DPPH• y como control positivo el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox). Las mezclas se incubaron por 30 min en oscuridad y la absorbancia se midió a 515 nm en el lector de microplacas.

El radical ABTS^{•+} se generó mezclándose 7 mM de ABTS ($0,058 \text{ g}$ en 20 mL de agua) con $2,45 \text{ mM}$ de persulfato de potasio ($0,0132 \text{ g}$ en 20 mL de agua), dejándose reaccionar en oscuridad a 4°C por 16 h. Esta solución fue diluida con etanol hasta alcanzar una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm . Para el ensayo, se mezclaron $180 \mu\text{L}$ del radical ABTS^{•+} con $20 \mu\text{L}$ de cada extracto, incubándose por 30 min en oscuridad. La absorbancia se midió a 750 nm contra un control de Trolox y el radical sin el extracto.

El porcentaje de inhibición del radical para cada extracto se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición del radical} = ((Ac - As) / Ac) \times 100$$

donde Ac es la absorbancia del control negativo y As es la absorbancia de la muestra.

2.10 Análisis estadísticos

Se aplicaron diseños anidados para determinar las diferencias en el contenido de fenoles y flavonoides totales, y en la capacidad antioxidante de los extractos a distintas concentraciones frente a los radicales ABTS y DPPH, entre órganos de ramas con y sin presencia de agallas dentro de un mismo árbol. Además, para evaluar la variación entre todos los órganos muestreados en la planta.

Se consideraron como efectos fijos el tipo de tejido (AgT, AgH, TRA, HRA, TRS y HRS) y la condición (presencia o ausencia de agallas), al igual que el tipo de rama de la que provenían. Los supuestos de independencia de los datos, la característica de anidado y la aditividad se cumplieron por la construcción de cada una de las bases de datos.

Los supuestos de normalidad y homocedasticidad se estudiaron mediante los residuos del modelo. La normalidad se estudió mediante la aplicación del test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad se observó graficándose los residuos correspondientes. Esto debido a que es posible aplicar una prueba analítica dado

el carácter desbalanceado de la cantidad de niveles del factor anidado. Cuando fue apropiado, se realizaron comparaciones *post hoc* mediante pruebas de Tukey ajustadas para comparaciones múltiples.

Para detectar diferencias entre tipos de órganos cuando no fue posible aplicar el diseño anidado, se aplicó un ANOVA, probándose los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas previamente con las pruebas de Shapiro-Wilk por grupos y de Bartlett, respectivamente. En caso de no existir homocedasticidad, se aplicó un ANOVA Welch. Cuando hubo diferencias significativas, para identificarlas, se aplicó una prueba *post hoc* de Tukey.

Para el análisis de los datos obtenidos de la identificación por HPLC se utilizó un mapa de calor (*heatmap*) y un análisis de agrupamiento jerárquico con una transformación de estandarización tipo Z-score. Todos los análisis fueron realizados en R (versión 4.3.1), considerándose un nivel de significancia del 5% para todas las pruebas.

III. RESULTADOS

3.1 Concentración de fenoles solubles totales

La concentración de fenoles solubles totales no dependió del anidamiento de órgano en rama para hojas ($F = 3,06$; $p = 0,09$) (Fig. 3.1A). Sin embargo, la concentración de estos metabolitos se afectó significativamente por la presencia o ausencia de agallas en sus ramas ($F = 5,96$; $p = 0,03$) (Fig. 3.1A). La concentración de fenoles fue mayor en hojas de ramas sanas (Fig. 3.1A).

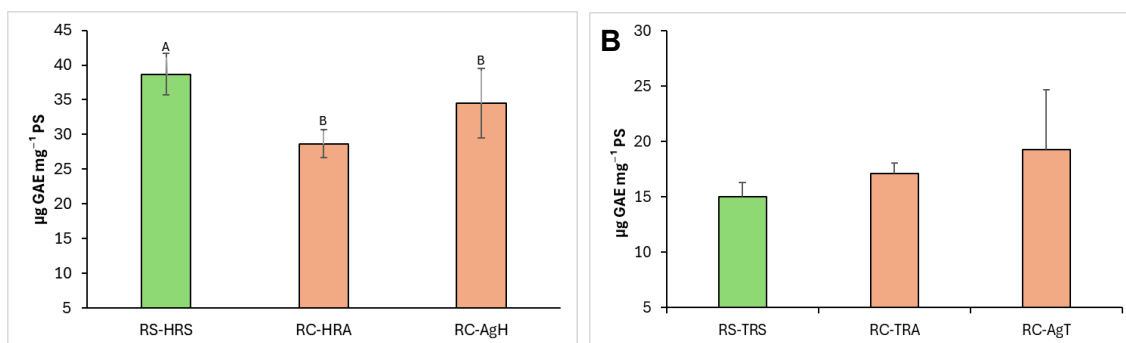


Fig. 3.1. Concentración de fenoles solubles totales en órganos de *S. polygama* bajo distintas condiciones. A) Contenido de fenoles totales en hojas; B) Contenido de fenoles totales en tallos. Abreviaturas: AgH: agalla de hoja; AgT: agalla de tallo; HRA: hojas de ramas con agallas; HRS: hojas sin agallas; RC: rama afectada; RS: rama sana; TRA: tallos de ramas afectadas; TRS: tallos sanos. Los datos fueron analizados mediante un diseño anidado con efectos fijos-fijos, con un nivel de significancia de 5%. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas entre las ramas afectadas y no afectadas mediante la prueba de Tukey.

La concentración de fenoles solubles totales en tallos no se afectó por la interacción entre rama-órgano ($F = 0,80$; $p = 0,39$) (Fig. 3.1B). Además, la concentración de estos metabolitos no se vio afectada significativamente por la presencia o ausencia de agallas en sus ramas ($F = 2,86$; $p = 0,11$) (Fig. 3.1B).

3.2 Contenido de flavonoides

La concentración de flavonoides no varió significativamente entre las hojas de distintas condiciones ($F = 1,83$; $p = 0,19$) (Fig. 3.2A). En contraste la concentración de estos metabolitos se afectó significativamente en tallos (Fig. 3.2B). El contenido de flavonoides en AgT y TRA ($\mu = 0,18$; $\mu = 0,19$) fue significativamente mayor en comparación con TRS ($\mu = 0,12$) ($F = 10,35$; $p < 0,01$) (Fig. 3.2B).

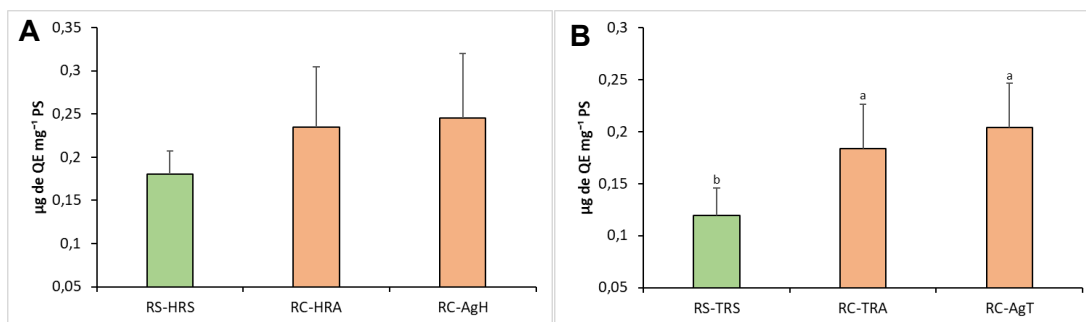


Fig. 3.2. Concentración de flavonoides solubles totales en órganos de *S. polygama* bajo distintas condiciones. A) Contenido de flavonoides totales en hojas. B) Contenido de flavonoides totales en tallos. Abreviaturas: AgH: agalla de hoja; AgT: agalla de tallo; HRA: hojas de ramas con agallas; HRS: hojas sin agallas; RC: rama afectada; RS: rama sana; TRA: tallos de ramas afectadas; TRS: tallos sanos. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA a un nivel de significancia de 5%. Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los órganos mediante la prueba de Tukey.

3.3 Perfil y concentración de compuestos fenólicos

El desarrollo de las agallas en los tallos y hojas de *S. polygama* afectó el perfil y concentración de compuestos fenólicos (Tabla 3.1, Fig. 3.3). Se identificaron un total de 15 compuestos fenólicos en los extractos de *S. polygama* entre los que se encuentran seis ácidos fenólicos, un ácido hidroxicinámico, dos flavan-3-oles, tres flavonas y flavonoles y tres compuestos derivados de fenoles (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Concentraciones de grupos de compuestos fenólicos en hojas y tallos de *S. polygama* bajo distintas condiciones.

Subclases de fenoles	Compuestos Fenólicos	Hojas			Tallos		
		HRS	HRA	AgH	TRS	TRA	AgT
Ácidos fenólicos y derivados							
	Ácido 4-hidroxibenzoico	431 ± 2.91	382 ± 2.22	362 ± 2.87	112 ± 0.04	98.0 ± 1.08	52.8 ± 0.15
	Ácido gálico	19.6 ± 0.18	24.8 ± 0.18	21.0 ± 0.10	6.98 ± 0.07	6.52 ± 0.05	18.0 ± 0.08
	p-tirosol	0.23 ± 0.007	0 ± 0	0 ± 0	0.02 ± 0.001	0.29 ± 0.009	7.12 ± 0.005
	Ácido vanílico	0 ± 0	0.28 ± 0.01	9.63 ± 0.02	0 ± 0	0 ± 0	0.01 ± 0.001
	Vainillina	5.07 ± 0.32	6.02 ± 0.24	8.06 ± 0.21	1.13 ± 0.07	2.1 ± 0.14	12.3 ± 0.07
	2,6-dimetoxifenol	5.37 ± 0.03	7.42 ± 0.05	9.63 ± 0.02	0 ± 0	0.83 ± 0.01	0 ± 0
Ácidos hidroxicinámicos y derivados							
	Ácido p-cumárico	3.96 ± 0.06	2.41 ± 0.05	3.29 ± 0.03	1.84 ± 0.01	1.54 ± 0.04	0 ± 0
Flavan-3-ol							
	Epicatequina	7.65 ± 0.10	12.0 ± 0.05	11.1 ± 0.02	0.56 ± 0.004	1.13 ± 0.01	0.85 ± 0.01
	Galato de epigallocatequina	6.39 ± 0.08	16.5 ± 0.98	10.0 ± 0.01	8.81 ± 0.09	7.67 ± 0.03	10.2 ± 0.05
Flavonas y Flavonoles							
	Apigenina	0 ± 0	0.59 ± 0.01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Pinocembrina	2.26 ± 0.04	3.54 ± 0.08	3.62 ± 0.06	0 ± 0	5 ± 0.04	3.28 ± 0.002
	Quercetina 3-glucósido	2.68 ± 0.02	5.53 ± 0.07	5.48 ± 0.02	0.10 ± 0.002	1.99 ± 0.04	0.02 ± 0
Otros							
	5-HMF	3.85 ± 0.10	0.29 ± 0.01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	3,4-dihidroxifenilglicol	0 ± 0	84.4 ± 0.51	99.4 ± 1.21	40.4 ± 0.01	0 ± 0	158 ± 1.07
	4-metilcatecol	1.21 ± 0.01	2.15 ± 0.05	1.82 ± 0.02	0 ± 0	0.24 ± 0.01	0 ± 0

*Las concentraciones se expresan como mg mL⁻¹. Los datos se representan como media ± desviación estándar.

El *heatmap* con agrupamiento jerárquico separó los órganos en dos grupos principales: Hojas y Tallos (Fig. 3.3). Las HRS, HRA y AgH se agruparon juntas compartiéndose firmas fenólicas similares, donde HRS presentó diferencias con respecto a las otras condiciones de hojas (Fig. 3.3). Los compuestos que compartieron los órganos foliares fueron: ácido 4-hidroxibenzoico, ácido gálico, vainillina, 2,6-dimetoxifenol, ácido p-cumárico, epicatequina, galato de epigallocatequina, pinocembrina, quercetina 3-glucósido y 4-metilcatecol, donde el ácido 4-hidroxibenzoico fue el compuesto más abundante en los tres órganos foliares (Tabla 3.1).

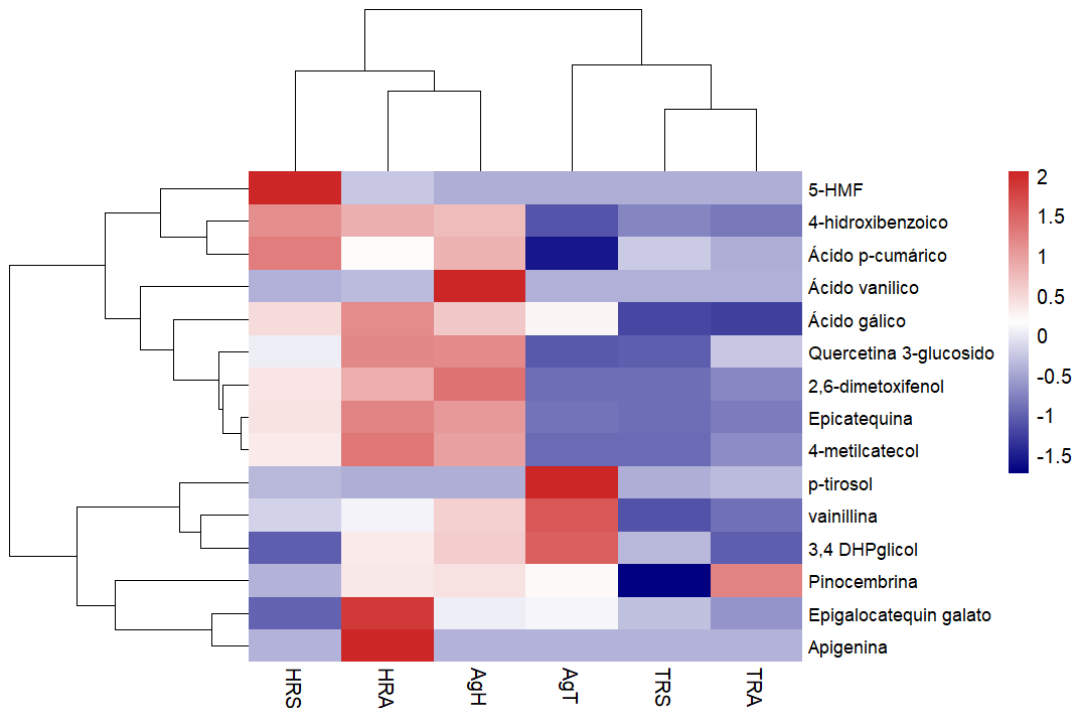


Fig. 3.3. Mapa de calor (*heatmap*) y *clustering* jerárquico de compuestos fenólicos en hojas y tallos de *S. polygama* bajo distintas condiciones. Abreviaturas: AgH: agalla de hoja; AgT: agalla de tallo; HRA: hojas de ramas con agallas; HRS: hojas sin agallas; RC: rama afectada; RS: rama sana; TRA: tallos de ramas afectadas; TRS: tallos sanos. La escala de colores representa niveles bajos (tonos fríos) a altos (tonos cálidos) para cada compuesto. El dendrograma horizontal muestra la agrupación jerárquica de las muestras y el vertical el agrupamiento jerárquico de compuestos.

Sin embargo, cinco compuestos (p-tirosol, ácido vanílico, apigenina, 5-HMF y 3,4-dihidroxifenilglicol) no se detectaron simultáneamente en los tres órganos foliares (Fig. 3.3, Tabla 3.1). Por otro lado, la vainillina y el 2,6-dimetoxifenol se acumularon exclusivamente en AgH, órgano donde también se observó el mayor contenido de ácido vanílico con un incremento de 34.4 veces respecto de HRA y del 3,4-dihidroxifenilglicol que aumentó 1.2 veces (Tabla 3.1).

En el grupo tallos, TRS, TRA y AgT convergieron en un mismo grupo, donde TRS y TRA tuvieron firmas fenólicas similares y AgT difirió debido a su composición (Fig. 3.3). Siete compuestos (ácido 4-hidroxibenzoico, ácido gálico, p-tirosol, vanillina, epicatequina, galato de epigallocatequina y quercetina 3-glucósido) fueron compartidos entre los distintos condiciones de tallos (Tabla 3.1). El mayor contenido de epicatequina y quercetina 3-glucósido se localizó en TRA (Tabla 3.1). En AgT se encontraron las mayores concentraciones de ácido gálico, p-tirosol, vainillina y 3,4-dihidroxifenilglicol, en contraste con TRS y TRA, donde en compuestos como p-tirosol la concentración se mantuvo baja ($< 1 \text{ mg mL}^{-1}$). La AgT fue el único órgano donde no se detectó el ácido p-cumárico (Fig. 3.3, Tabla 3.1). Varios compuestos no fueron detectados en algunos órganos como el ácido vanílico, 2,6-dimetoxifenol, apigenina, pinocembrina y 4-metilcatecol, los que no se detectaron en TRA (Tabla 3.1). El ácido vanílico estuvo ausente en TRA al igual que 5-HMF (Fig. 3.3, Tabla 3.1). Se detectó una concentración alta de pinocembrina en TRA, el cual disminuyó 1,5 unidades en AgT (Tabla 3.1) y el 4-metilcatecol se detectó únicamente en TRA, pero a muy bajas concentraciones (Fig. 3.3).

3.4 Evaluación de la actividad antioxidante

3.4.1 Inhibición del radical ABTS

Los resultados de la actividad antioxidante de los extractos de tallos y hojas contra el radical ABTS mostraron diferencias significativas en solo dos de las concentraciones analizadas (Tabla 3.2). La concentración de 1 mg mL⁻¹ mostró diferencias significativas entre los tipos de hojas ($F = 443.3$; $p < 0,01$), donde el mayor porcentaje de inhibición lo indujo HRS. En tallos el anidamiento del órgano en la rama tuvo un efecto significativo en los porcentajes de inhibición ($F = 36,06$; $p < 0,01$), donde AgT mostró estadísticamente mayor actividad antioxidante que TRA y TRS (Tabla 3.2) y la procedencia de la rama tuvo un efecto significativo en el porcentaje de inhibición ($F = 7,94$; $p < 0,05$), separándose los órganos en dos grupos (Tabla 3.2).

A la concentración de 50 mg mL⁻¹ se evidenció un efecto significativo del anidamiento de órgano:rama en los extractos de hoja ($F = 7,33$; $p < 0,05$), donde se obtuvieron porcentajes de inhibición superiores a 90% (Tabla 3.2). El mayor porcentaje de inhibición se registró para los extractos de AgH y el más bajo para los de HRA (Tabla 3.2). El efecto de la rama no fue significativo para hojas ($F = 0,43$; $p = 0,52$), pero para tallos el efecto del anidamiento de órgano:rama indicó diferencias significativas ($F = 13,09$; $p < 0,01$) entre AgT y los otros órganos no

afectados (TRA y TRS) (Tabla 3.2). El tipo de rama tuvo un efecto significativo ($F = 20,31$; $p < 0,01$) en la actividad antioxidante, la que fue significativamente mayor en los tallos de ramas con agallas respecto a los de ramas sin agallas (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de tallos y hojas de *S. polygama* para eliminar el radical ABTS.

Muestra	Inhibición (%)		
	1 mg mL ⁻¹	50 mg mL ⁻¹	100 mg mL ⁻¹
HRS	93.48±0.11 ^a	92.82±0.40 ^{ab}	92.71±0.39
HRA	72.27±9.01 ^b	92.42±0.30 ^b	93.12±0.26
AgH	69.09±2.11 ^b	92.98±0.45 ^a	92.77±0.24
TRS	64.38±2.87 ^{Bb}	92.99±0.15 ^{Bb}	92.75±0.27
TRA	60.41±2.88 ^{Ab}	93.18±0.31 ^{Ab}	92.94±0.35
AgT	80.04 ±1.31 ^{Aa}	93.68±0.19 ^{Aa}	92.90±0.45

*Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del radical. Los datos se representan por la media ± desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante un diseño anidado a excepción de la concentración de 1 mg mL⁻¹ en hojas donde se aplicó un ANOVA. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas entre ramas y las letras minúsculas indican diferencias significativas entre órganos anidados en ramas. Las letras se obtuvieron luego de aplicar una prueba de Tukey con un valor de significancia del 5%.

A concentración de 100 mg mL⁻¹ en hojas el anidamiento ($F = 3,22$; $p = 0,09$) ni el tipo de rama ($F = 2,11$; $p = 0,17$) tuvieron un efecto significativo en los porcentajes de inhibición del radical ABTS (Tabla 3.2).

3.4.2 Inhibición del radical DPPH

Para el radical DPPH el porcentaje de inhibición de la mayoría de los extractos de los diferentes órganos de *S. polygama*, a las diferentes concentraciones, mostraron diferencias significativas (Tabla 3.3). Por ejemplo, el porcentaje de inhibición de los extractos de hojas a 1 mg mL^{-1} mostraron un efecto significativo del anidamiento de órganos en ramas ($F = 21,79$; $p < 0,01$), donde los porcentajes de inhibición de los extractos provenientes de RS fueron mayores que en RC ($F = 9,81$; $p < 0,01$) (Tabla 3.3). De forma similar, los extractos de HRS presentaron un mayor porcentaje de inhibición respecto a los de HRA y AgH (Tabla 3.3). En tallos hubo diferencias significativas en todos los niveles de órganos anidados en ramas ($F = 9,85$; $p < 0,01$), mientras que el efecto de la rama fue significativamente mayor en los extractos de RS en comparación con los de RC ($F = 63,21$; $p < 0,01$) (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de tallos y hojas de *S. polygama* a tres concentraciones distintas para eliminar el radical DPPH.

Muestra	Inhibición (%)		
	1 mg mL ⁻¹	50 mg mL ⁻¹	100 mg mL ⁻¹
HRS	51,16±9,07 ^{Aa}	65,66±2,66 ^B	39,60±5,21 ^B
HRA	49,17±12,21 ^{Bb}	70,41±2,18 ^A	74,32±4,03 ^A
AgH	24,66±7,64 ^{Bb}	68,76±2,86 ^A	74,77±3,82 ^A
TRS	23,68±2,87 ^{Aa}	62,5±1,01 ^B	28,81±8,16 ^c
TRA	11,44±2,88 ^{Bc}	64,98±1,03 ^A	61,03±4,13 ^b
AgT	15,23±1,31 ^{Bb}	66,07±0,59 ^A	69,86±3,34 ^a

* Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del radical. Los datos se representan como media ± desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante un diseño anidado a excepción de la concentración de 100 mg mL⁻¹ en tallos, donde se aplicó un ANOVA. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas entre ramas y las letras minúsculas indican diferencias significativas entre órganos anidados en ramas. Las letras se obtuvieron luego de aplicar una prueba de Tukey con un valor de significancia del 5%.

A concentración de 50 mg mL⁻¹ los porcentajes de inhibición de extractos de hojas no tuvieron efecto significativo del anidamiento de órganos en ramas ($F = 1,4$; $p = 0,25$), solo fueron afectados significativamente por la condición de la rama ($F = 10,77$; $p < 0,01$), donde las RC tuvieron los mayores porcentajes de inhibición (Tabla 3.3). En tallos no hubo un efecto significativo del anidamiento ($F = 4,07$; $p = 0,06$), pero el tipo de rama afectó significativamente el porcentaje de inhibición del radical DPPH ($F = 42,5$; $p < 0,01$), donde los extractos de órganos de RC

tuvieron los valores más altos en comparación con RS (Tabla 3.3). A concentración de 100 mg mL^{-1} el anidamiento no tuvo un efecto significativo ($F = 0,04$; $p = 0,85$), en contraste con las ramas ($F = 294,67$; $p < 0,01$) que afectaron significativamente el porcentaje de inhibición de RC con respecto a RS (Tabla 3.3). En tallos hubo diferencias significativas en los porcentajes de inhibición de los distintos grupos ($F = 99.63$; $p < 0,01$), donde el valor más alto se detectó en AgT, seguido de TRA, ambos significativamente mayores a TRS (Tabla 3.3).

3.5 Histolocalización de polifenoles

Los test histoquímicos no mostraron diferencias en los sitios de acumulación de los fenoles y flavonoles entre órganos no afectados de RC y RS (Fig. 3.4). Los fenoles se detectaron en el mesófilo de la hoja, en el citoplasma y paredes de células del parénquima de empalizada y parénquima esponjoso (Fig. 3.4A-B). En las agallas de hojas, los fenoles se acumularon en las células del parénquima que bordean la cámara ninfal (Fig. 7C-D), y en la epidermis (Fig. 3.4C). En la cara abaxial se forman abundantes tricomas los que acumulan polifenoles (Fig. 3.4D).

Los flavonoles en HRS y HRA se detectaron en el parénquima vascular y vaina de los conductos secretores y en las paredes de las células parenquimáticas (Fig. 3.4F-G). En HRA, se observó la presencia de tricomas en la cara abaxial con

presencia de flavonoles en su interior (Fig. 3.4G). En AgH se observó la mayor acumulación en el compartimiento interno de la cámara, así como en la peridermis y compartimiento externo (Fig. 3.4H-J). Además, se acumularon en las paredes de las células del parénquima cortical de la agalla, donde se encuentran haces vasculares con el floema dirigido hacia la cámara ninfal (Fig. 3.4I).

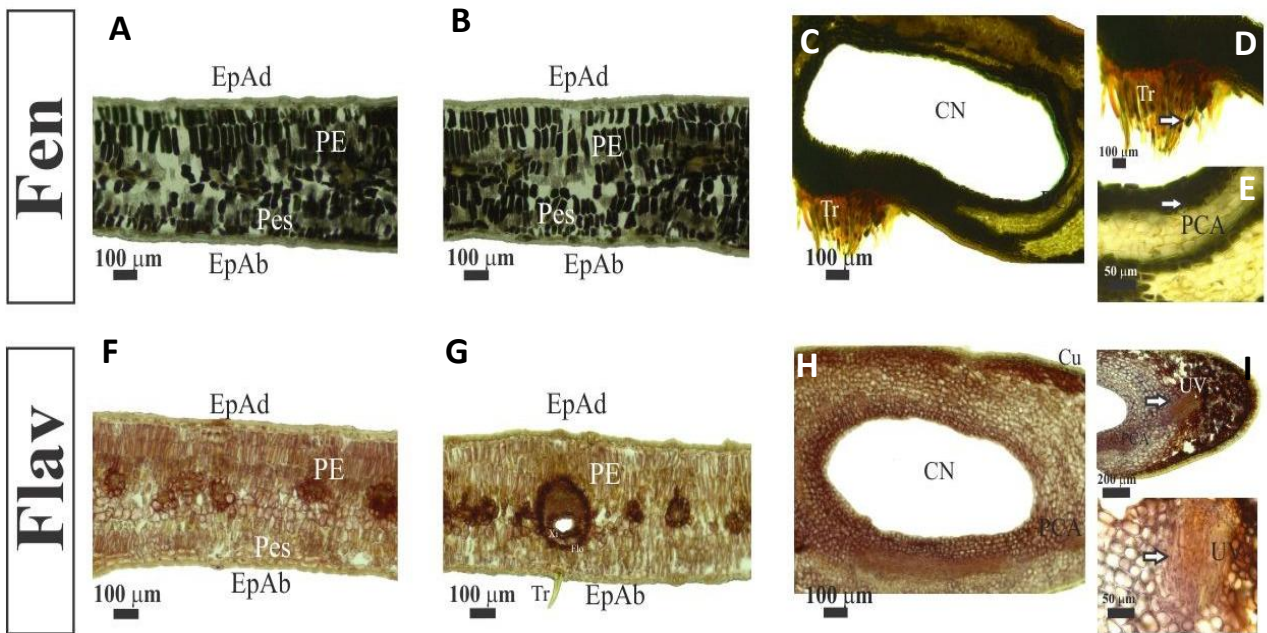


Fig. 3.4 Histolocalización de polifenoles y flavonoles en hojas de *S. polygama*. (A-B) polifenoles detectados en hojas sin agallas. (C-E) Acumulación de polifenoles en agallas. (F-G) Flavonoles visualizados en hojas sin agallas. (H-J) Reacción positiva de flavonoles en agallas. Abreviaturas: EpAb, epidermis abaxial; EpAd, epidermis adaxial; CPG, parénquima cortical de la agalla; Cu, cutícula; Fen: fenoles; Flav: flavonoles; Flo, floema; Me, médula; CN, cámara ninfal; PCA, parénquima cortical de la agalla; PE, parénquima de empalizada; Pes, parénquima esponjoso; Tr, tricomas; UV, unidad vascular; Xi, xilema.

En TRS y TRA se detectó la acumulación de polifenoles en tejidos periféricos como peridermis y el córtex (Fig. 3.5A), en conductos resiníferos y en idioblastos en la médula (Fig. 3.5A-B). En TRA los polifenoles se detectaron principalmente en la peridermis, córtex y zona cambial (Fig. 3.5B). En los tallos afectados por *C. rubra*, se acumularon polifenoles en el citoplasma de células alrededor de la cámara ninfal, así como en xilema, radios parenquimáticos, floema y córtex (Fig. 3.5C). Se observó coloración café-rojiza intensa para detección de flavonoles en tallos sin agallas, especialmente en el citoplasma de células de la peridermis y en las paredes de las células del córtex de la médula, mientras que en el xilema y el floema se detectaron solo en algunas células (Fig. 3.5F).

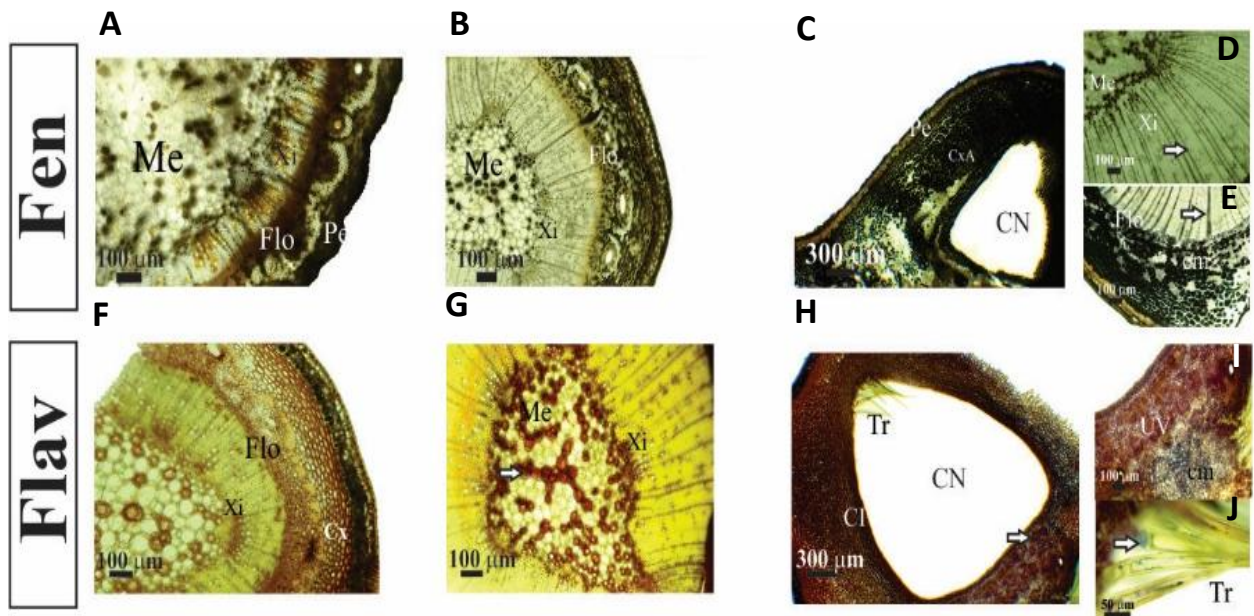


Fig. 3.5. Histolocalización de polifenoles y flavonoles en tallos de *S. polygama*. A-B) polifenoles detectados en tallos sin agallas (RS y RC). C-E) Acumulación de polifenoles en agallas. F-G) Flavonoles visualizados en tallos sin agallas (RS y RC). H-J) Reacción positiva de flavonoles en agallas. Abreviaturas: Cl, cortex interno; cm, cortex medio; Cx, córtex; CxA, córtex de la agalla; PE, peridermis; Fen: fenoles; Flav: flavonoles; Flo, floema; Me, médula; CN, cámara ninfal; Tr, tricomas; UV, unidad vascular; Xi, xilema.

En tallos de ramas afectadas cercanos a las agallas se detectó la acumulación de flavonoides en la médula (Fig. 3.5G). Hubo una reacción intensa de flavonoles en la región adyacente a la cámara ninfal en AgT, donde se encontraron unidades vasculares orientadas hacia esta y localizadas entre el córtex interno y córtex medio (Fig. 3.5I). Además, se observaron tricomas hacia el compartimiento interno de la cámara ninfal, con acumulación de flavonoles (Fig. 3.5J).

IV. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos evidencian que el desarrollo de agallas inducidas por *C. mammifex* y *C. rubra* remodelan de manera diferenciada la distribución, síntesis y concentración de polifenoles y actividad antioxidante en hojas y tallos de *S. polygama*. Esta modificación del perfil de polifenoles confirma la capacidad de los inductores para ejercer un control específico sobre el estado metabólico y redox del hospedero, fenómeno descrito como una sofisticada adaptación evolutiva en las interacciones planta-insecto gallícolas (Biere *et al.*, 2013; Jorge *et al.*, 2018; Guedes *et al.*, 2019; Mishra *et al.*, 2024).

El alto contenido de fenoles en hojas sin agallas coincide con lo reportado por Agudelo *et al.* (2012), donde estas duplicaron la concentración de dichos metabolitos en comparación con las agallas. No existieron variaciones en los tallos, lo que sugiere un metabolismo defensivo basal robusto. Sin embargo, según estudios previos, existe una mayor concentración de polifenoles en tallos sanos en comparación con tallos afectados por *C. rubra* (Guedes *et al.*, 2019).

Los mayores porcentajes de inhibición que se registraron para el radical ABTS en comparación con DPPH se atribuyen a las diferencias intrínsecas en el mecanismos de reacción de ambos radicales. El primero posee una naturaleza anfífilica que le permite reaccionar con antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (Re *et al.*, 1999), logrando capturar la actividad de la fracción más polar del extracto,

la cual tiende a ser subestimada por el radical DPPH debido a su carácter predominantemente hidrofóbico. En cuanto a los mecanismos de acción, DPPH actúa principalmente por transferencia de átomos de hidrógeno y presenta limitaciones ante polifenoles complejos (Re *et al.*, 1999). Por otro lado, el radical ABTS opera mediante transferencia de electrones y de átomos de hidrógeno (Re *et al.*, 1999), lo que le confiere mayor sensibilidad y velocidad de reacción frente a una diversidad de compuestos con múltiples grupos hidroxilo, como los compuestos identificados en *S. polygama*. En consecuencia, se obtuvieron porcentajes más altos en órganos con agallas, donde se ocurre una síntesis diversificada de metabolitos secundarios.

Los resultados sugieren que la actividad antioxidante se remodela espacialmente en respuesta a la agalla: la intensificación de la señal de flavonoides y fenoles en tricomas, mesófilo reorganizado y córtex de la agalla cerca de la cámara ninfal indica una movilización de recursos para mitigar el estrés oxidativo e inducir fotoprotección en el tejido afectado (Stone & Schönrogge, 2003; El-Nashar *et al.*, 2021; Guedes *et al.*, 2023). Esta focalización de la capacidad antioxidante en el sitio de infección, en lugar de un aumento sistémico, responde a mecanismos de generación y disipación de estrés oxidativo descritos anteriormente en distintos hospederos de agallas (Carneiro *et al.*, 2025; Guedes *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2025).

Según lo descrito por Buchanan *et al.* (2015), esta respuesta estaría intrínsecamente ligada a cascadas de señalización mediadas por fitohormonas, como el ácido jasmónico (JA) y el ácido salicílico (SA), los cuales actúan como principales reguladores de la vía de los fenilpropanoides, la cual da origen a la mayoría de los compuestos fenólicos. El ataque por insectos gallícolas induce la transcripción de genes que codifican enzimas claves para la síntesis de metabolitos secundarios (como la fenilalanina amonio liasa PAL), redirigiendo el flujo de carbono desde el metabolismo primario hacia la síntesis de compuestos secundarios de defensa (Buchanan *et al.*, 2015; Oates *et al.*, 2016). Estudios en transcriptómica confirman que esta reprogramación activa rutas biosintéticas específicas para el desarrollo de la agalla (Schultz *et al.*, 2025), lo que explica la síntesis *de novo* de metabolitos especializados y el perfil polifenólico distintivo observado en el análisis de mapa de calor con agrupamiento jerárquico.

A diferencia de las hojas, en los tallos la actividad antioxidante no parece ser el objetivo principal de la síntesis fenólica. Aunque se observa una acumulación de metabolitos en el parénquima cortical hipertrofiado, la evidencia sugiere que estos polifenoles actúan más como refuerzos estructurales, que como agentes de acción redox (Oliveira *et al.*, 2016). La reducción de la médula y el aumento del espesor del córtex en la agalla indican que el metabolismo se desvía especialmente hacia la síntesis de polímeros de soporte y transporte de nutrientes para el insecto (Guedes *et al.*, 2023; Nogueira *et al.*, 2025), donde la actividad antioxidante tiene un menor protagonismo.

La inducción de agallas en *S. polygama* genera una reprogramación profunda donde la hipertrofia e hiperplasia resulta en cambios observados en el mesófilo y la epidermis de hojas, los que coinciden con resultados de estudios anatómicos en agallas de esta especie (Agudelo *et al.*, 2012). En tallos afectados la remodelación de los tejidos es aún más drástica, evidenciada por la reducción del espacio medular y la hiperplasia del córtex, junto con el xilema y floema, lo que coincide con lo descrito anteriormente en este tipo de agallas (Guedes *et al.*, 2018a). En ambos órganos se observó la neoformación de haces/unidades vasculares, una alteración anatómica que, en concordancia con el hábito alimenticio de los hemípteros, incrementa los sitios de alimentación disponibles para el insecto (Nogueira *et al.*, 2025). Esta reestructuración vascular asegura un flujo constante de fotoasimilados hacia los tejidos especializados, los cuales cumplen funciones críticas en la nutrición y protección del inductor durante su desarrollo (Guedes *et al.*, 2018a; Carneiro *et al.*, 2025).

En consecuencia, los resultados de este estudio sugieren que la síntesis de fenoles responde a una remodelación hacia la fotoprotección y el estrés metabólico en hojas causado por la acción del insecto, mientras que en tallos predominan funciones de soporte estructural y transporte (Stone & Schönrogge, 2003; Guedes *et al.*, 2019; Dumanović *et al.*, 2020). Estos resultados confirman que las rutas que regulan la biosíntesis, deposición y redistribución de compuestos fenólicos son moduladas de manera órgano-específica, reflejando una notable plasticidad metabólica frente al estrés biótico (Acuña-Fontecilla *et al.*,

2024; Guedes *et al.*, 2025; Moreira *et al.*, 2025). En este contexto, la inducción de agallas se asocia a un aumento de la capacidad antioxidante de hojas y tallos de *S. polygama*, lo que sugiere una reprogramación funcional de sus propiedades biológicas.

V. CONCLUSIONES

1. La inducción de agallas por *C. mammifex* y *C. rubra* provoca una reprogramación metabólica órgano-específica en *S. polygama*, caracterizada por la disminución de fenoles en hojas y aumento de flavonoides en tallos asociados a agallas.
2. El análisis por HPLC-DAD demostró la alteración significativa del perfil polifenólico por la inducción de agallas en *S. polygama*, reflejada en firmas químicas diferenciales junto con la acumulación y síntesis *de novo* y/o la sobreexpresión en la síntesis de metabolitos en agallas, las cuales funcionan como microambientes metabólicamente especializados.
3. Las alteraciones en la composición polifenólica se relacionan con una mayor actividad antioxidante en los órganos de ramas afectadas, indicando una respuesta funcional frente al estrés oxidativo asociado a la interacción planta-insecto.

4. La histolocalización de polifenoles, evidenció una redistribución espacial de los metabolitos hacia los tejidos internos de la agalla, especialmente en torno a la cámara ninfal, lo que confirmaría el redireccionamiento metabólico inducido por los insectos.
5. En conjunto, los resultados demuestran que la formación de agallas en *S. polygama* implica una reprogramación anatómica y metabólica muy específica, en la que la modulación de la biosíntesis, redistribución y función de los compuestos fenólicos se asocia a cambios reflejados en la capacidad antioxidante y en consecuencia, en las propiedades biológicas de la especie. La plasticidad metabólica que muestra el hospedero posiciona a esta interacción planta-insecto como un modelo relevante para futuros estudios y su eventual uso para la manipulación de rutas fenólicas y extracción de compuestos antioxidantes de interés para la industria.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelghffar, E. A. R., Mostafa, N. M., El-Nashar, H. A. S., Eldahshan, O. A., & Singab, A. N. B. (2022). Chilean pepper (*Schinus polygamus*) ameliorates the adverse effects of hyperglycaemia/dyslipidaemia in high fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic rat model. *Industrial Crops and Products*, 183, 114953. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114953>.
- Acuña-Fontecilla, A., Bruna, J., Ganga, M. A., & Godoy, L. (2024). Antimicrobial activity of leaf aqueous extract of *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera against pathogenic bacteria and spoilage yeasts. *Plants*, 13(16), 2248. <https://doi.org/10.3390/plants13162248>
- Agudelo, I., Wagner, M., Gurni, A., & Ricco, R. (2012). Dinámica de polifenoles y estudio anatomo-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, 162. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85625780006>
- Attard, E. (2013). A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols. *Central European Journal of Biology*, 8(1), 48-53. <https://doi.org/10.2478/s11535-012-0107-3>
- Biere, A., & Tack, A. J. M. (2013). Evolutionary adaptation in three-way interactions between plants, microbes and arthropods. *Functional Ecology*, 27(3), 646-660. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12096>
- Buchanan, B. B., Grisse, W., & Jones, R. L. (Eds.). (2015). *Biochemistry and molecular biology of plants* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Burckhardt, 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(1), 57-155. <https://doi.org/10.1080/002229300299688>
- Carneiro, R. Gonçalves da S., de Queiroz, D. L., Burckhardt, D., & Guedes, L. M. (2025). Structural and functional diversity of neotropical psyllid galls (Hemiptera: Psylloidea) refute the “simplicity” hypothesis. In D. C. d. Oliveira & R. M. d. S. Isaias (Eds.), *Plant Galls: Structure and Functions*. 253-283. Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-80064-1_13

- Chamorro, M. F., & Ladio, A. (2020). Native and exotic plants with edible fleshy fruits utilized in Patagonia and their role as sources of local functional foods. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02952-1>
- Damasceno, F. C., Primieri, K. P., Gonçalves, J. L., & Alcaraz, C. (2010). Changes in the volatile organic profile of *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) and *Baccharis spicata* (Asteraceae) induced by galling psyllids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(3), 556–563.
- Dias, G., Ferreira, B., Moreira, G. R. P., & Isaias, R. M. S. (2013). Developmental pathway from leaves to galls induced by a sap-feeding insect on *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera (Anacardiaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(1), 187-200. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652013000100010>
- Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jačević, V. (2020). The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Frontiers in Plant Science*, 11, 552969. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>
- Echeverria, C., Coomes, D., Salas, J., Rey-Benayas, J. M., Lara, A., & Newton, A. (2006). Rapid deforestation and fragmentation of Chilean Temperate Forests. *Biological Conservation*, 130(4), 481-494. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.01.017>
- El-Nashar, H.A.S., Mostafa, N.M., El-Badry, M.A., Eldahshan, O.A. y Singab, A.N.B. (2020). Composición química, actividad antimicrobiana y citotóxica de aceites esenciales de hojas y corteza de *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera, cultivadas en Egipto. *Natural Product Research*, 35 (23), 5369–5372. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1765343>
- Erazo, S.; Delporte, C.; Negrete R.; García, R.; Zaldívar, M.; Iturra, G.; Caballero, E.; López, JL; Backhouse, N. (2006). Constituyentes y actividades biológicas de *Schinus polygamus*. *Revista de Etnofarmacología*, 107: 395-400.
- Feucht, W., Schmid, P. P. S., & Christ, E. (1986). Distribution of flavanols in meristematic and mature tissues of *Prunus avium* shoots. *Journal of Plant Physiology*, 125(1), 1-8. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(86\)80237-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0176-1617(86)80237-1)
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213–226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>

- Giron, D., Frago, E., Glevarec, G., Pieterse, C. M. J., & Dicke, M. (2013). Cytokinins as key regulators in plant-microbe-insect interactions: connecting plant growth and defence. *Functional Ecology*, 27(3), 599-609. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12042>
- Gobierno Regional del Biobío. (2023). Recursos naturales: Comuna de Quillón. SIT Rural. https://www.sitrural.cl/wp-content/uploads/2023/10/Quillon_rec_nat.pdf
- Guedes L.M., Aguilera N., Becerra J., Hernández V., & Isaias R. M. S. (2016). Leaf and stem galls of *Schinus polygamus* (Cav.) Cabr (Anacardiaceae): Anatomical and chemical implications. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69, 266-273. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.10.012>
- Guedes, L. M., Aguilera, N., Ferreira, B. G., Becerra, J., Hernández, V., & Isaias, R. M. S. (2018a). Anatomical and phenological implications of the relationship between *Schinus polygama* (Cav.) (Cabrera) and the galling insect *Calophya rubra* (Blanchard). *Plant Biology (Stuttg)*, 20(3), 507-515. <https://doi.org/10.1111/plb.12696>
- Guedes, L. M., Aguilera, N., Ferreira, B. G., Becerra, J., Saéz, K., Pérez, C., Hernández, V., & Isaias, R. M. S. (2018b). Factors influencing the morphogenesis of galls induced by *Calophya mammifex* (Calophyidae) on *Schinus polygama* (Anacardiaceae) leaves. *Botany*, 96(9), 589–599. <https://doi.org/10.1139/cjb-2018-0078>
- Guedes, L. M., Aguilera, N., Ferreira, B. G., Riquelme, S., Sáez-Carrillo, K., Becerra, J., Pérez, C., Bustos, E., & Isaias, R. M. S. (2019). Spatiotemporal variation in phenolic levels in galls of calophyids on *Schinus polygama* (Anacardiaceae). *Journal of Plant Research*, 132(4), 509-520. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01118-6>
- Guedes, L. M., Torres, S., Sáez-Carillo, K., Becerra, J., Pérez, C. I., & Aguilera, N. (2022). High antioxidant activity of phenolic compounds dampens oxidative stress in *Espinosa nothofagi* galls induced on *Nothofagus obliqua* buds. *Plant Science*, 314, 111114. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111114>
- Guedes, L. M., Costa, E. C., Isaias, R. M. S., Sáez-Carillo, K., & Aguilera, N. (2023). Structural patterns of Lepidoptera galls and the case of *Andescecidium parrai* (Cecidosidae) galls on *Schinus polygama* (Anacardiaceae). *Journal of Plant Research*, 136(5), 715-728. <https://doi.org/10.1007/s10265-023-01472-6>

- Guedes, L. M., Aguilera, N., y Rodríguez-Cerda, L. (2025). Plant galls: Implications for the chemical profile and biological activity of their host plants. En D. C. d. Oliveira y R. M. d. S. Isaias (Eds.), Plant galls. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-80064-1_10
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. Biological Research, 52, 39. <https://dx.doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Johansen DA (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- Jorge, N. C., Souza-Silva, É. A., Alvarenga, D. R., Saboia, G., Soares, G. L. G., Zini, C. A., Cavalleri, A., & Isaias, R. M. S. (2018). Structural and chemical profiles of *Myrcia splendens* (Myrtaceae) leaves under the influence of the galling *Nexothrips* sp. (Thysanoptera). Frontiers in Plant Science, 9, Article 1521. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01521>
- Kim, M. H. (2003). Flavonoids inhibit VEGF/bFGF-induced angiogenesis in vitro by inhibiting the matrix-degrading proteases. J Cell Biochem, 89(3), 529-538. <https://doi.org/10.1002/jcb.10543>
- Mishra, P., Saini, P., & Patni, V. (2024). Biochemical dynamics during development of insect-induced plant galls: a review. Journal of Plant Diseases and Protection, 131(6), 1803-1818. <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00931-z>
- Moreira, G. R. P., Gonçalves, G. L., Eltz, R. P., San Blas, G., & Davis, D. R. (2012). Revalidation of *Oliera Brèthes* (Lepidoptera: Cecidosidae) based on a redescription of *O. argentinana* and DNA analysis of Neotropical cecidosids. Zootaxa, 3557(1), 1–19. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3557.1.1>
- Moreira, A. S. F. P., Kuster, V. C., & de Lima, J. F. (2025). Green Galls Can Photosynthesize: Gall Metabolism and Host Organ Impact. In D. C. d. Oliveira & R. M. d. S. Isaias (Eds.), Plant Galls: Structure and Functions (pp. 135-147). Springer Nature Switzerland. ?? https://doi.org/10.1007/978-3-031-80064-1_8
- Nyman, T., y Julkunen-Tiitto, R. (2000). Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 97(24), 13184–13187. <https://doi.org/10.1073/pnas.230294097>

- Nogueira, R. M., Bragança, G. P. P., Costa, E. C., de Toledo Picoli, E. A., & dos Santos Isaias, R. M. (2025). The protagonism of phloem in gall development. In D. C. d. Oliveira & R. M. d. S. Isaias (Eds.), *Plant Galls: Structure and Functions* (pp. 69-86). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-80064-1_5
- Oates, C. N., Denby, K. J., Myburg, A. A., Slippers, B., & Naidoo, S. (2016). Insect galls and their plant hosts: from omics data to systems biology. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11). <https://doi.org/10.3390/ijms17111891>
- Oliveira, D. C., Christiano, J. C. S., Soares, G. L. G., & Isaias, R. M. S. (2006). Structural and chemical defensive reactions of *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) to *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemiptera: Psyllidae) galling stimuli. *Brazilian Journal of Botany*, 29(4), 657–667. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000400015>
- Pavarini, D. P., Pavarini, S. P., Niehues, M., & Lopes, N. P. (2012). Influencias exógenas en los niveles de metabolitos secundarios de las plantas. *Ciencia y Tecnología de Alimentos para Animales*, 176(1–4), 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>
- Price, P. & Fernandes, G. & Waring, Gwendolyn. (1987). Adaptive Nature of Insect Galls. *Environmental Entomology*. 16. 15-24. [10.1093/ee/16.1.15](https://doi.org/10.1093/ee/16.1.15)
- Quintero, C., Garibaldi, L. A., Grez, A., Polidori, C., & Nieves-Aldrey, J. L. (2014). Galls of the temperate forest of southern South America: Argentina and Chile. *Neotropical insect galls*, 429-463. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-017-8783-3_21
- Roberta, R., Nicoletta, P., Anna, P., Ananth, P., Min, Y., & Catherine, R.-E. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sanchez, P., & Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana Botánica*, 75(1), 1–430. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001>
- Sáiz, F., & Núñez, C. (1997). Estudio ecológico de las cecidias del género *Schinus*, especialmente las de hoja y de rama de *S. polygamus* y *Schinus latifolius* (Anacardiaceae), en Chile central. *Acta Entomológica Chilena*, 21, 39–59.

- Schultz, J. C., Appel, H. M., Edger, P. P., & Body, M. J. A. (2025). What transcriptomics can and cannot tell us about insect gall development. In D. C. d. Oliveira & R. M. d. S. Isaias (Eds.), *Plant Galls: Structure and Functions* (pp. 19-29). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-80064-1_2
- Singh, G., Passari, A. K., Leo, V. V., Mishra, V. K., Subbarayan, S., Singh, B. P., Kumar, B., Kumar, S., Gupta, V. K., Lahlenmawia, H., & Nachimuthu, S. K. (2016). Evaluation of phenolic content variability along with antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic potential of selected traditional medicinal plants from India. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00407>
- Stone, G. N., & Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(10), 512-522. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00247-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00247-7)

