

Análisis estructural, ultraestructural y desarrollo ontogenético de los tricomas glandulares de *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae), «yacón»

Mercado, María I.¹; María V. Coll Araoz²; Ana I. Ruiz¹; Alfredo Grau²; Graciela I. Ponessa¹

¹ Fundación Miguel Lillo, Instituto de Morfología Vegetal. Miguel Lillo 251, (4000) S.M. de Tucumán, Tucumán, Argentina.

² Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Ciencias Naturales, Instituto de Ecología Regional (IER), CC34, (4107) Yerba Buena, Tucumán, Argentina.

C.e. mainesmer@yahoo.com.ar, ponessagra@gmail.com

► **Resumen** — Mercado, María I.; María V. Coll Araoz; Ana I. Ruiz; Alfredo Grau; Graciela I. Ponessa. 2012. "Análisis estructural, ultraestructural y desarrollo ontogenético de los tricomas glandulares de *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae), «yacón»". *Lilloa* 49 (1). Se describe el desarrollo ontogenético, anatómico y ultraestructural de tricomas glandulares (TG) durante el desarrollo foliar y el ciclo anual vegetativo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob. «yacón», un cultivo andino. Para ello se utilizó una combinación de técnicas de microscopía óptica y electrónica. Los TG de las hojas de «yacón» se hallan completamente desarrollados y concluyen su actividad secretora en etapas tempranas del desarrollo foliar. La secreción de los TG constituida mayormente por lactonas sesquiterpénicas, en parte responsables de la actividad antidiabética de las hojas, es acumulada bajo la cutícula y liberada solo por acción mecánica. Este trabajo contribuye a la comprensión de las defensas químicas foliares del «yacón» y permite diseñar técnicas de cosecha apuntando a la elaboración de infusiones con fines medicinales.

Palabras clave: *Smallanthus sonchifolius*, tricomas glandulares, ontogenia, estructura, ultraestructura.

► **Abstract** — Mercado, María I.; María V. Coll Araoz; Ana I. Ruiz; Alfredo Grau; Graciela I. Ponessa. 2012. "Structure, ultrastructure and ontogenetic development of glandular trichomes of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae), «yacón»". *Lilloa* 49 (1). Anatomical and ultrastructural changes occurring in glandular trichomes (GT) during leaf development and during the annual growth cycle of the Andean crop *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob. «yacón», were studied using a combination of light and electron microscopy. GT are fully established and their secretory activity appears to be concluded at early stages of leaf development. GT secretion is mainly constituted by sesquiterpene lactones, partly responsible for the antidiabetic activity of leaves, that are accumulated underneath the cuticle and released only when GT are mechanically disrupted. This study contributes to the understanding of «yacón» leaves chemical defenses and to improve harvesting techniques aiming at its pharmacological use.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*; glandular trichomes; ontogeny; structure; ultrastructure.

INTRODUCCIÓN

Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Rob. (Heliantheae, Asteraceae), comúnmente conocida como «yacón», es una planta alimenticia y medicinal andina cuya distribución se extiende desde Colombia hasta

el noroeste argentino (Grau & Rea, 1997). Por su atractivo, el cultivo de «yacón» se ha expandido a muchos países alrededor del mundo, principalmente China, Japón y Brasil, siendo importado a Europa.

Las raíces tuberosas del yacón consumidas desde tiempos precolombinos como «frutas frescas», son una rica fuente de fructooligosacáridos (FOS) (Grau & Rea, 1997) y

compuestos fenólicos con numerosas propiedades benéficas para la salud (Simonovska *et al.*, 2003; Genta *et al.*, 2005, 2009). En las últimas décadas las hojas de «yacón» han comenzado a usarse para la elaboración de infusiones medicinales con propiedades anti-diabéticas, hipocolesteromiantes (Aybar *et al.*, 2001; Baroni *et al.*, 2008; Genta *et al.*, 2010) y antioxidantes (Valentova *et al.*, 2005).

Los terpenos son metabolitos secundarios típicamente secretados por tricomas glandulares (TG) y, entre ellos, las lactonas sesquiterpénicas (LST) son características de las Asteraceae (Spring, 2000; Duke *et al.*, 2000). En la naturaleza actúan como compuestos disuasivos a herbívoros, tóxicos ante patógenos o alelopáticos (Picman, 1986; Harborne & Tomas-Barberan, 1991), presentando interés comercial y medicinal (Harborne & Tomas-Barberan, 1991; Marles *et al.*, 1995). De las hojas de yacón, específicamente de sus TG, se han aislado 16 LST, ácidos diterpénicos acíclicos y derivados del ácido ent-kaurénico (Schorr *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2008; Dou *et al.*, 2008; Kakuta *et al.*, 1992; Mercado *et al.*, 2010). Enhydrina, la LST mayoritaria, aislada de TG de las hojas de «yacón», presenta actividad anti-inflamatoria (Feltenstein *et al.*, 2004; Hwang *et al.*, 1996), antimicrobiana (Inoue *et al.*, 1995) y se ha demostrado recientemente que es en parte responsable de la actividad antidiabética del té de «yacón» (Genta *et al.*, 2010), siendo incluida como principio activo de formulaciones farmacéuticas (Schorr & Da Costa, 2005).

Se presenta la ontogenia, anatomía y ultraestructura de TG de «yacón», en relación a su producto de secreción (LST, particularmente enhydrina), durante el desarrollo foliar de la planta. Los resultados se discuten en relación al uso medicinal de sus hojas y a la resistencia de esta especie frente a patógenos y otros herbívoros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Examinado.— *Smallanthus sonchifolius*: ARGENTINA, Tucumán, Dpto. Yerba

Buena, Horco Molle. Centro Universitario Horco Molle (CUHM) 26° 47'S, 65° 19'W, 547 msnm. 2006. M. I. Mercado y G. I. Ponnessa s.n. (LIL 607173).

Técnicas Anatómicas.— Hojas de *S. sonchifolius* fueron coleccionadas periódicamente desde Enero a Julio de 2006.

Se tomaron muestras de 1 cm² de la sección media de la lámina en hojas de cuatro estadios de desarrollo: estadio 1, primordio foliar de menos de 3 cm de longitud, cubriendo los ápices meristemáticos; estadio 2, hojas apicales en expansión, 3 a 5 cm de longitud, situadas a la altura del primer nudo; estadio 3, hojas medias, 8 a 16 cm long., situadas en el tercer a cuarto nudo y estadio 4, hojas basales maduras a senescentes, 16 a 20 cm de longitud., situadas en sexto o séptimo nudo (Fig. 1 A).

Para preparados permanentes las muestras fueron fijadas en FAA (formol, alcohol etílico, ácido acético, agua, 100: 500:50: 350 ml), deshidratadas en una serie de alcohol butílico terciario e incluidas en parafina según Johansen (1940). Se realizaron cortes seriados de 7-10 µm de espesor, en un Micrótopo rotativo de Minot.

Se realizaron cortes a mano alzada de material fresco y fijado en FAA. Se utilizó coloración simple con safranina, metacromática con violeta de cresilo, combinada sucesiva doble safranina- fast green y sudán IV para la detección histoquímica de lípidos.

Se realizaron diafanizados empleando la técnica Dizeo de Strittmatter (1973) para la observación de las superficies foliares.

Para el estudio en microscopía óptica se utilizó un microscopio Karl Zeiss Axiostar plus con ocular micrométrico. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Canon compact, modelo PowerShot A 620 IS M52 (O) 12.1 megapixels.

Para microscopía electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET), las muestras fueron fijadas en glutaraldehído fosfato 5% con buffer 0.1 M de cocadilato de sodio ajustado a pH 7, post fijadas en tetróxido de osmio 1.5% con buffer 0.1 M de cocadilato de sodio ajustado a pH 7.2.

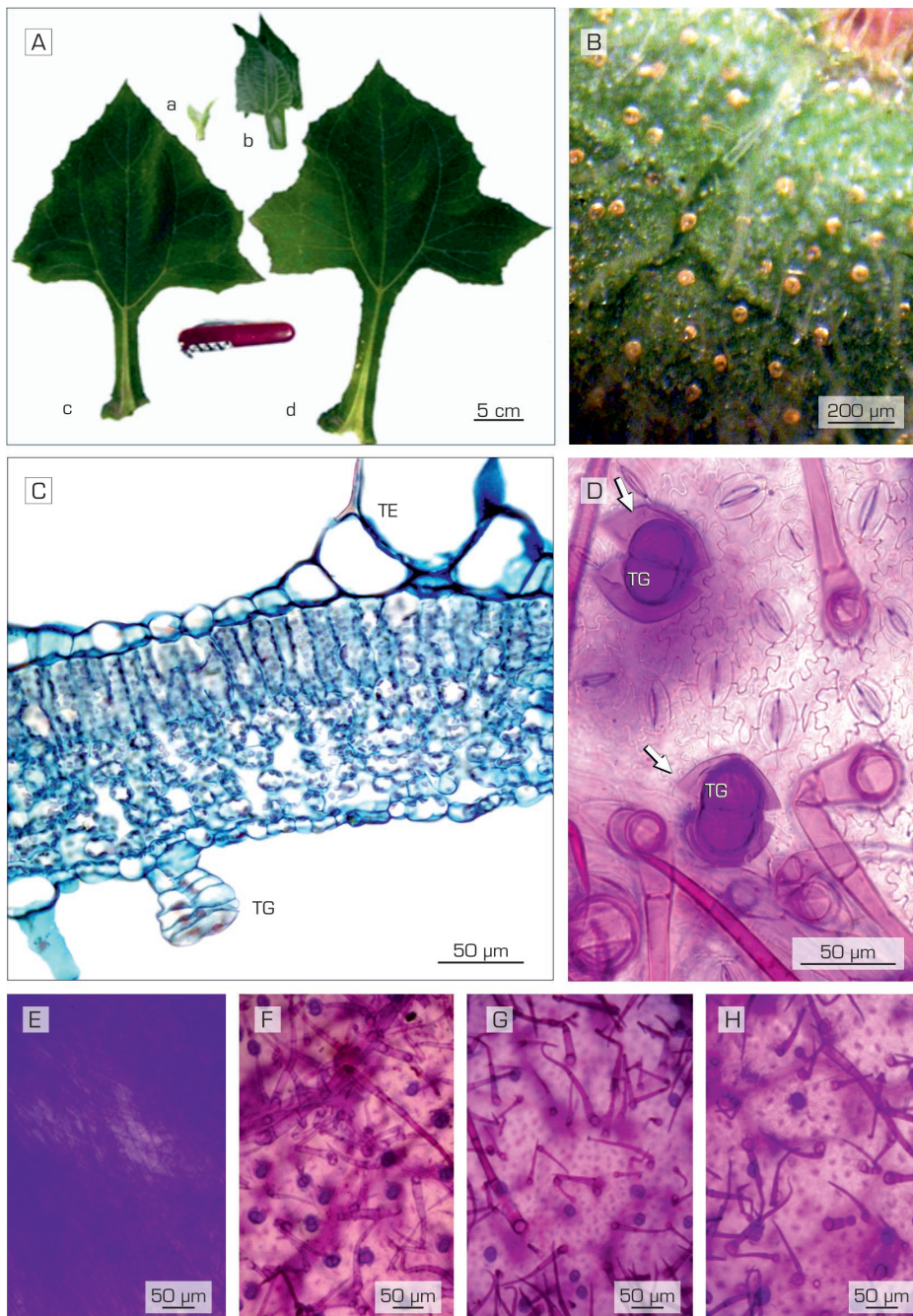


Fig. 1. *Smallanthus sonchifolius*. Morfología y anatomía foliar. **A:** Detalle de diferentes estadios de maduración foliar. **B:** Superficie foliar, vista paradermal de material fresco en microscopio estereoscópico. **C:** Transcorte de lámina. **D:** Vista paradermal, epidermis abaxial. **E:** Vista paradermal, diafanizado de hojas en estadio 1. **F:** Vista paradermal, diafanizado de hojas en estadio 2. **G:** Vista paradermal, diafanizado de hojas en estadio 3. **H:** Vista paradermal, diafanizado de hojas en estadio 4. Referencias: **a**, primordios foliares (estadio 1); **b**, hoja apical (estadio 2); **c**, hoja media (estadio 3); **d**, hojas basales (estadio 4); **TG**, tricoma glandular; **TE**, tricoma eglandular.

Para MEB, las muestras fueron deshidratadas en acetona, secadas mediante punto crítico con CO₂ y recubiertas con oro (Fine Coat Ion Sputter JEOL JFC-1100).

Para MET las muestras fueron deshidratadas en acetona a 4° C, embebidas en resina sintética epoxi y seccionadas en forma seriada utilizando un ultra micrótopo con cuchilla de diamante. Los cortes seriados ultrafinos fueron teñidos en acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las observaciones en MEB de la LST enhydrina cristalina, de material fresco y de muestras recubiertas en oro fueron realizadas en un MEB JEOL 35 CF y en un MEB con emisión de campo ZEISS SUPRA-55 VP (field emission scanning electron microscope - FESEM) acoplado a un espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (energy dispersive X-ray spectrometer - EDS) para realizar caracterización elemental (LAMENOA, UNT, Tucumán, Argentina).

Las observaciones en MET se realizaron en un equipo Zeiss Leo 906-E con cámara digital adosada en el Centro de microscopía electrónica, UNC, Córdoba, Argentina.

Aislamiento de enhydrina cristalina.— La LST enhydrina en su forma cristalina fue obtenida por cristalización en EtOH a partir de una mezcla de LST extraída de las hojas de «yacón» siguiendo el procedimiento descrito por Schorr *et al.* (2007) y Kakuta *et al.* (1992), con algunas modificaciones (Genta *et al.*, 2010).

La lactona fue identificada por comparación de su espectro de masas, ¹H y ¹³C RMN utilizando un cromatógrafo gaseoso Hewlett-Packard 5973 acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar Hewlett-Packard 6890 GC con una columna Elite-5MS Perkin-Elmer (5% fenil metil siloxano, 30 m × 0.25 mm d.i. × 0.25 µm de espesor de film) y espectrómetro de RMN Bruker AC 200 operando a 200 MHz para ¹H y a 50 MHz para ¹³C utilizando deuterio cloroformo con TMS como standart interno.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA

Smallanthus sonchifolius presenta hojas simples, opuestas decusadas, pubescentes, color verde oscuro de brillo céreo. Pecíolo alado con estípulas superpuestas, muchas veces connadas en la base foliar. Lámina triangular simétrica, ovada, de textura membranacea, con venación primaria acródroma y venación secundaria camptódroma broquidódroma. Ápice acuminado, base truncada, cordada a levemente sagitada y margen dentado serrado (Fig. 1 A). El mesofilo es dorsiventral con haces vasculares colaterales y canales secretores esquizógenos asociados a las nervaduras, previamente descriptos por Mercado *et al.* (2006).

En ambas superficies, predominando en el envés de la hoja, se observan estomas anomicíticos, tricomas eglandulares uniseriados (TE) y tricomas glandulares (TG) biseriados con 6 a 12 pares de células (Fig. 1 B-D), miden 76,9 (± 20,6) µm de longitud por 48,5 (± 4,7) µm de diámetro a la altura de la cabeza.

Al analizar hojas en diferentes estadios de desarrollo se hace evidente que a medida que la hoja se expande disminuye la densidad de TG por unidad de superficie (Tabla 1; Fig. 1 E-H). Cuando las hojas alcanzan el 20% de su máxima expansión, aproximadamente 5 cm de longitud (hojas apicales, estadio 2), coexisten TG maduros funcionales y TG inmaduros en proceso de diferenciación (Fig. 2 G). Cuando alcanzan el 50% de su expansión, 8-10 cm de longitud (hojas medias, estadio 3), todos los TG observados son maduros y funcionales.

ONTOGENIA

El desarrollo de los TG foliares ocurre en sentido acrópeto, a partir de una única célula protodérmica prominente sobre la superficie foliar (Fig. 2 A), la cual se divide en forma periclinal asimétrica, resultando un estadio bicelular del tricoma (Fig. 2 B). Ambas células se dividen nuevamente en sentido anticlinal para formar el estadio tetra celular (Fig. 2 C), esta etapa es seguida por

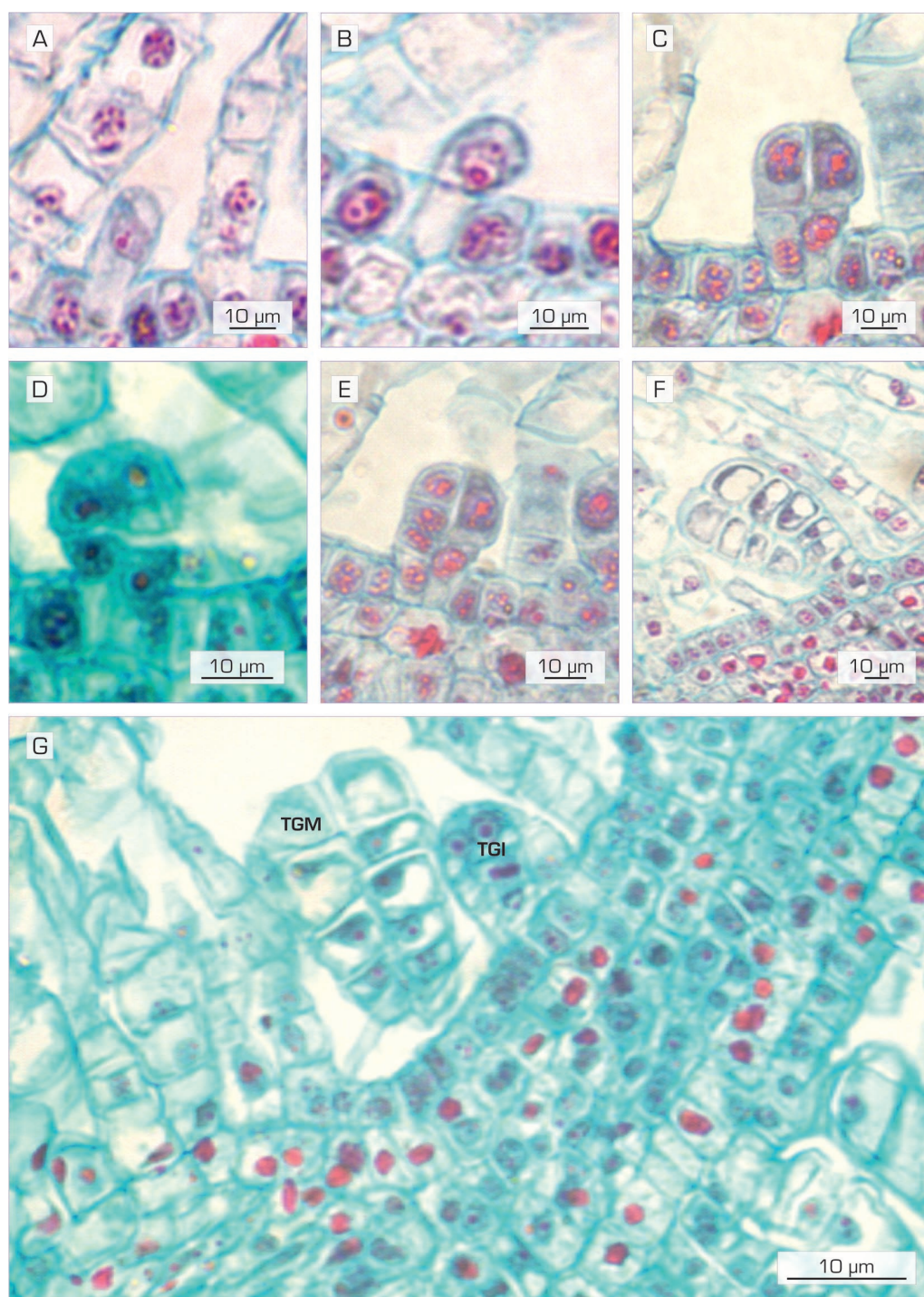


Fig. 2. *Smallanthus sonchifolius*. Desarrollo ontogenético de tricomas glandulares foliares. **A:** Célula protodérmica. **B:** TG bicelular. **C:** TG tetracelular. **D:** TG hexacelular simétrico. **E:** TG hexacelular asimétrico. **F:** TG maduro que aún no comenzó a exudar. **G:** Hoja apical que ha alcanzado el 10% de su tamaño máximo, donde coexisten tricomas glandulares maduros (TGM) e inmaduros (TGI).

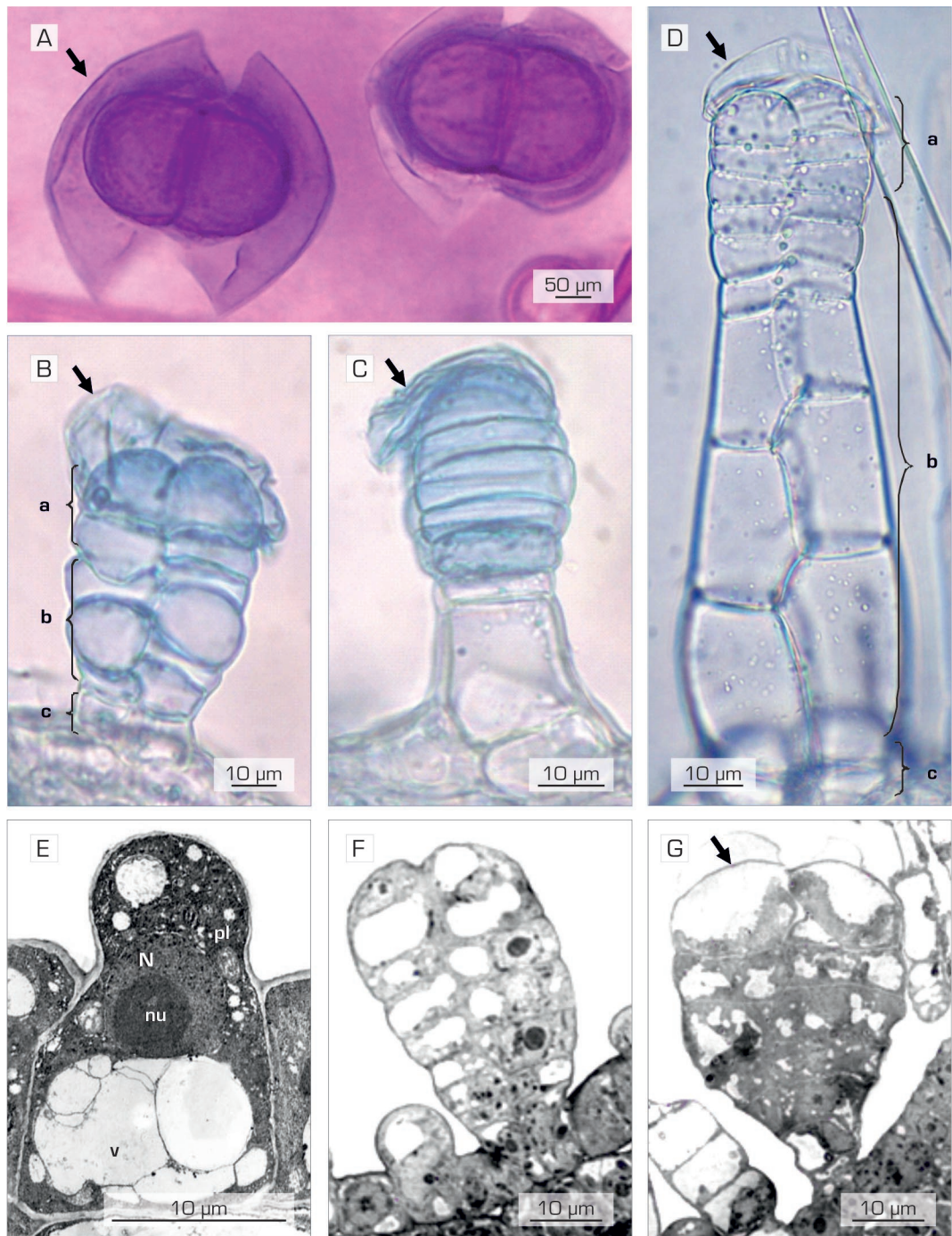


Fig. 3. *Smallanthus sonchifolius*. Tricomas glandulares foliares. **A:** TG vista paradermal con cutícula parcialmente obliterada (flecha). **B y C:** TG vista lateral. **D:** TG con células del pie elongadas. **E:** MET, TG en etapa unicelular de desarrollo. **F:** MET, TG inmaduro pre-secretor. **G:** MET, TG maduro secretor con cutícula expandida (flecha). Referencias: a, cabeza; b, pie; c, base; N, núcleo; nu, nucleolo; v, vacuola; pl, plástidos; flecha, cutícula en expansión o parcialmente desgarrada.

subsecuentes divisiones periclinales asimétricas en sentido acrópeto, resultando en estadios alternativos de cinco, seis, siete, catorce (Fig. 2 D-F) y ocasionalmente más células distribuidas simétrica o asimétricamente (Fig. 2 E).

El proceso de división lleva a la formación de un TG maduro constituido por tres zonas definidas. La base, con un único par de células basales; el pie, con número variable (3-8 pares) de células que en algunos casos se presentan elongadas; y finalmente la cabeza, constituida por 1-2 pares de células subapicales y un par de células secretoras apicales cubiertas por una gruesa cutícula (Fig. 3 A-D), donde se acumulan los productos de secreción que se tiñen intensamente con sudán IV.

ULTRAESTRUCTURA Y PRODUCTOS DE SECRECIÓN

Durante la etapa uni- y bicelular, las células del TG presentan citoplasma denso, núcleos conspicuos con nucleolos prominentes, numerosos ribosomas libres, mitocondrias, plástidos con cierta organización tilacoidal, dictiosomas, retículo endoplasmático liso y rugoso en forma de sacos y escaso volumen vacuolar (Fig. 3 E). En las etapas posteriores la densidad citoplasmática aumenta, las vacuolas se hacen más conspicuas y el número de mitocondrias aumenta marcadamente (Fig. 3 F y G).

En el TG maduro, las células apicales de la cabeza secretora presentan grandes vacuolas, abundante retículo endoplasmático con dilataciones en las que se forman vesículas, mitocondrias con estroma denso, dictiosomas dispersos con pequeñas vesículas. Los plástidos presentan membranas degeneradas en un cuerpo prolamelar asociado a glóbulos electrodensos (plastoglobuli); en las inmediaciones de los plástidos se observa retículo periférico (Fig. 4 A-C). Se observan profusiones en la pared celular y desprendimiento incipiente de la cutícula asociada a la secreción (Fig. 4 B).

En contraste, los plástidos de las células subapicales presentan mayor organización tilacoidal, formando un cuerpo prolamelar

con depósitos amorfos osmiofílicos de aparente naturaleza lipídica. Estos plástidos se hallan asociados con cisternas del retículo endoplasmático (Fig. 4 D). En el citoplasma se observan abundantes vesículas electrodensas.

Las células del pie presentan grandes áreas de retículo endoplasmático vesiculado asociado a plástidos de tilacoides definidos y a pequeños glóbulos de material electrodenso, situados en la periferia celular (Fig. 4 E).

Las células basales presentan desarrollo normal a nivel de citoplasma y plástidos (Fig. 4 F).

Al realizar FESEM-EDS en material fresco, se observa que la cutícula que recubre la cabeza de los TG maduras permanece intacta y turgente por la presencia del material de secreción (Fig. 5 A), patrón que persiste aun cuando los tejidos comienzan a deshidratarse (Fig. 5 B). Cuando las muestras son sometidas a secado mediante el método de punto crítico, se observa una línea de dehiscencia que atraviesa la cutícula en coincidencia con la unión de las células apicales de la cabeza del tricoma (Fig. 5 B y C). El mismo efecto se observó en tejidos diafanizados e incluidos en parafina (Fig. 3 A-C).

Tanto las células apicales, como el material secretado al espacio subcuticular se tiñen intensamente con sudán IV, revelando la naturaleza lipídica de la secreción. El espectro elemental de rayos X muestra la presencia de 70% C y 30% O en la cabeza de los TG, relación idéntica a la observada para una muestra de enhidrina cristalina (Fig. 5 D-F).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados anatómicos, estructurales y ultraestructurales indican que los TG son los lugares donde se sintetizan y acumulan las LS de las hojas de yacón. Esto es consistente con observaciones previas realizadas para esta especie (Schorr *et al.*, 2007) y otras Asteraceae como *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Favi *et al.*, 2008; Monteiro *et al.*, 2001), *Artemisia spp.* (Werker *et al.*, 1994), *Inula spp.* (Werker & Phan, 1981), *Sigesbeckia jorullensis* Kunth (Heinri-

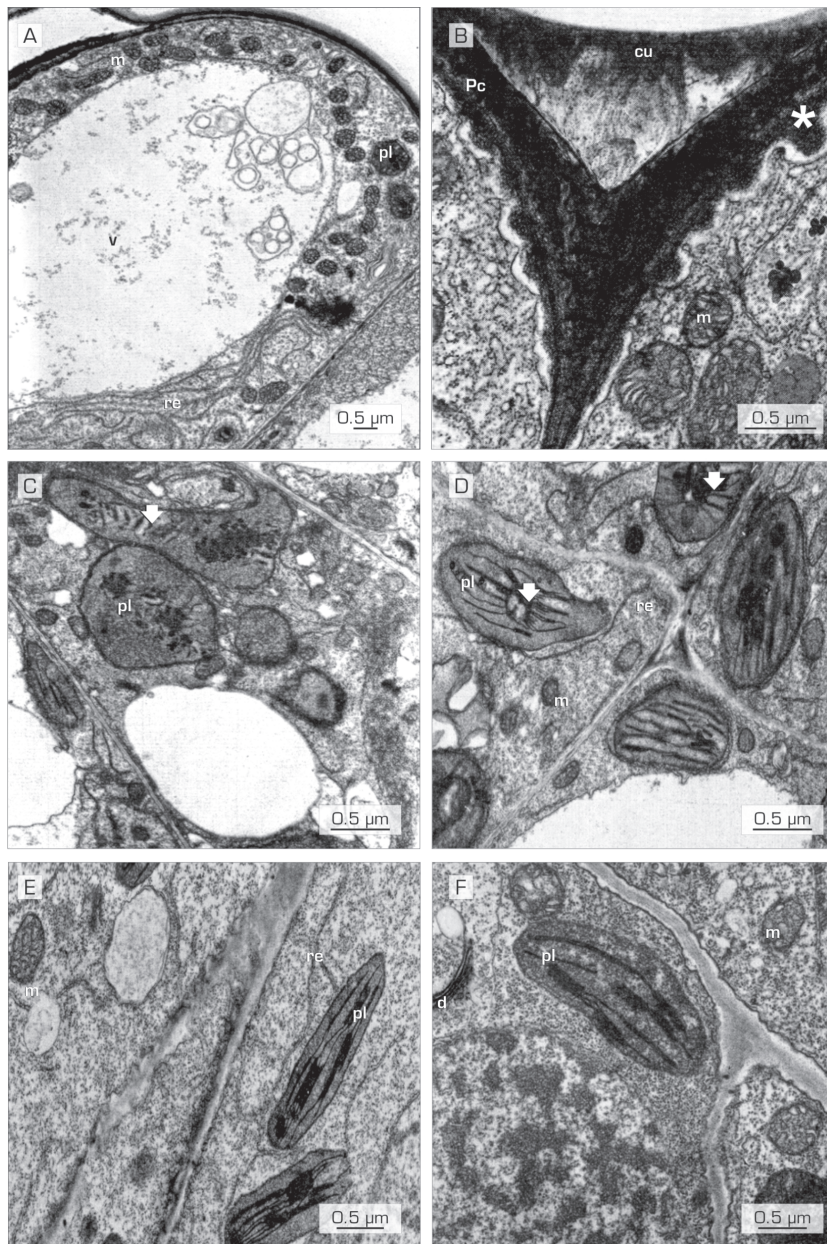


Fig. 4. *Smilax sonchifolius*. MET, detalles celulares de tricomas glandulares foliares maduros. **A:** Aspecto general de células secretoras apicales. **B:** Detalle de la célula apical, protusiones de la membrana asociadas con la secreción de productos al espacio subcuticular; separación incipiente de la cutícula con respecto a la pared celular. **C:** Detalle de plastidio de células apicales secretoras, con plastoglobulos y membranas tilacoidales degeneradas. **D:** Detalle de células subapicales mostrando plástidos con cuerpo prolamelar y membranas tilacoidales formando cuerpos prolamelares. **E:** Detalle de células del pie con plastidios de desarrollo normal asociados a retículo endoplasmático. **F:** Células basales con plastidios de desarrollo normal. Referencias: cu, cutícula; d, dictiosoma; m, mitocondria; pl, plastido; pc, pared celular; re, retículo endoplasmático; v, vacuola; asterisco, protusiones de la pared celular; punta de flecha, cuerpo prolamelar.

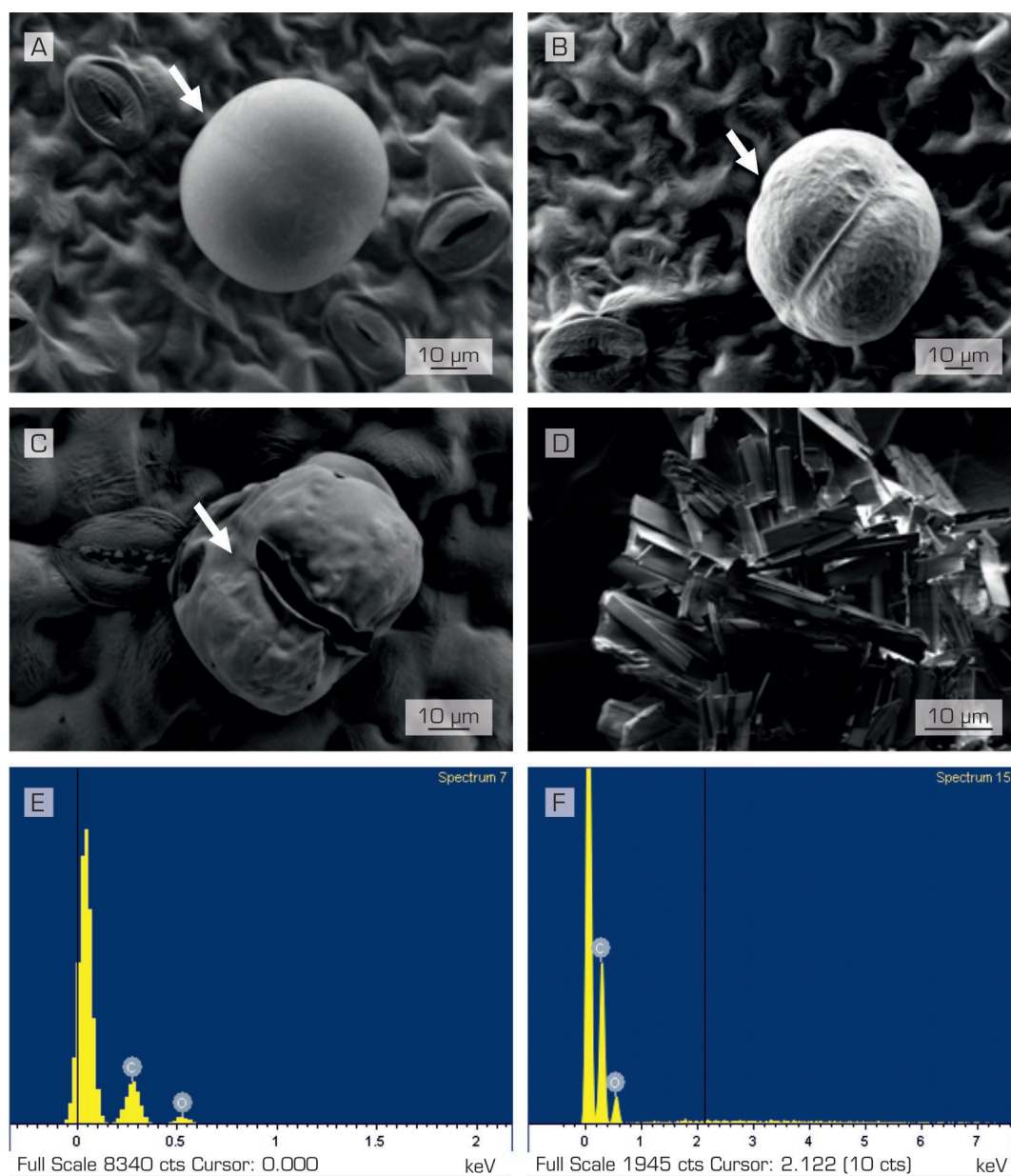


Fig. 5. *Smallanthus sonchifolius*. Tricomas glandulares foliares. **A:** MEB-FESEM TG con cutícula intacta en material fresco. **B:** MEB-FESEM Material fresco que ha iniciado el proceso de deshidratación. Notar que la cutícula permanece intacta. **C:** MEB de TG de material sometido a secado mediante el método de punto crítico de CO₂ y posteriormente recubierto con oro. Detalle de la cutícula parcialmente desgarrada siguiendo la línea de dehiscencia entre las células apicales. **D:** MEB-FESEM de cristales de enhydrina purificada de hojas de yacón. **E** y **F:** Espectroscopía elemental de rayos X revelando la presencia de 70% C y 30% O en cabeza de TG y enhydrina cristalina respectivamente. Referencias: **flecha**, cutícula parcialmente desgarrada.

ch *et al.*, 2002) y *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. (Favi *et al.*, 2008).

La tinción con sudán IV y el espectro elemental de rayos X (EDS) realizado sobre hojas frescas indican que el material acumulado en el espacio subcuticular de los TG es de naturaleza lipídica, coincidente en su composición elemental con la enhydrina. Así mismo, la presencia de protrusiones en la pared celular, plastidios con membranas degeneradas y cuerpos prolamelares asociados a plastoglobulos en las células apicales del TG han sido asociadas a la producción de LST y precursores de terpenos como el isopentenil pirofosfato (Cheng *et al.*, 2007).

El «yacon» es reconocido como un cultivo cuyo follaje es poco afectado por insectos y pestes (Grau & Rea, 1997; Seminario *et al.*, 2003). Esto se debe a las propiedades antialimentarias, antifúngicas y antimicrobianas de sus LST (Inoue *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 2003).

En el presente trabajo se demuestra que las LST permanecen confinadas en el espacio subcuticular de los TG, siendo liberadas solo ante daño mecánico causado por el ataque de herbívoros o insectos. Las LS actuarían en dos líneas de defensa, inicialmente como disuasivos a herbívoros por su sabor extremadamente amargo y luego frente a infecciones fúngicas y de otros patógenos cuando la hoja es dañada y estos metabolitos secundarios se derraman sobre la superficie foliar.

Wagner *et al.* (2004) sugieren que una posible limitación para el uso comercial de los productos obtenidos a partir de TG sería la exposición de los mismos a la atmósfera y la radiación solar que podría causar modificaciones químicas indeseables. Nuestros resultados indican claramente que *S. sonchifolius*, no sería el caso, ya que la LST enhydrina, responsable en parte de la actividad antidiabética, permanece confinada al espacio subcuticular y protegida de los factores ambientales a lo largo del desarrollo foliar.

Se determinó que el número de TG se establece en las primeras etapas del desarrollo foliar, disminuyendo en su densidad a medida que la hoja se expande. En consecuencia, esto llevaría a una disminución paulatina de la

concentración de LS en relación al peso seco de hojas en las etapas tardías del desarrollo foliar. Este patrón donde el desarrollo de los tricomas precede al desarrollo del órgano en el que están localizados, es similar al observado en otras familias de plantas, incluidas las Asteraceae (Dell & McComb, 1974, 1977; Werker & Fahn, 1981; Ascensão & Pais, 1998, Göpfert *et al.*, 2005). Desde una perspectiva práctica, hojas jóvenes (estadio 3) colectadas con fines medicinales rendirían una mayor concentración de metabolitos bioactivos (enhydrina), en base al peso seco.

BIBLIOGRAFIA

- Ascensão, L. & M. S. S. Pais. 1998. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany*, 81: 263-271.
- Aybar, M. J.; A. N. S. Riera; A. Grau & S. S. Sanchez. 2001. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 125-132.
- Baroni, S.; F. Suzuki-Kemmelmeier; S. M. Caparroz-Assef; R. K. N. Cuman & C.A. Bersani-Amado. 2008. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, 44: 521-530.
- Cheng, A-X; Y-G. Lou; Y-B. Mao; S. Lu; L-J. Wang & X-Y. Chen. 2007. Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of integrative plant biology* 49: 179-186.
- Dell, B. & A. J. McComb. 1974. Resin production and glandular hairs in *Beyeria viscosa* (Labill.) Miq. (Euphorbiaceae). *Australian Journal of Botany*, 22:195-210.
- Dell, B. & A. J. McComb. 1977. Glandular hair formation and resin secretion in *Eremophila fraseri* F. Meull (Myoporaceae). *Protoplasma*, 92:71-86.
- Dizeo de Strittmatter, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 15: 126-129.
- Dou, D. Q.; F. Tian; Y-Q. Qiu; T-G. Kang & F. Dong. 2008. Structure, elucidation and complete NMR spectral assignments of four new diterpenoids from *Smallanthus sonchifolius*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 46: 775-779.
- Duke, S.; C. Canel; A. M. Rimado; M. R. Tellez; M. V. Duke & R. N. Paul. 2000. Current potential exploitation of plant glandular trichome productivity. *Advances in Botanical Research*, 31: 121-141.
- Favi, F.; C. L. Cantrell; T. Mebrahtu & M. E. Kraemer. 2008. Leaf peltate glandular trichomes of *Vernonia*

- nia galamensis ssp. galamensis* var. *ethiopica* Gilbert: development, ultrastructure and chemical composition. International Journal of Plant Sciences, 169: 605-614.
- Genta, S.; W. M. Cabrera; M. I. Mercado; A. Grau.; C. Catalán & S. S. Sánchez. 2010. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: constituents of the most active fractions. Chemico-Biological Interactions, 185: 143-152.
- Genta, S.; W. M. Cabrera; N. Habib; J. Pons; I. M. Carillo; A. Grau & S. S. Sánchez. 2009. Yacón syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutrition, 28: 182-187.
- Genta, S.; W. M. Cabrera; A. Grau & S. S. Sánchez. 2005. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. Food and Chemical Toxicology, 43: 1657-1665.
- Göpfert, J. C.; N. Heil; J. Conrad & O. Spring. 2005. Cytological development and sesquiterpene lactone secretion in capitate glandular trichomes of sunflower. Plant Biology, 7: 148-155.
- Grau, A. & J. Rea. 1997. Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. En: M. Hermann & J. Heller (eds.): Andean roots and tuberous roots: Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon. Promoting the conservation and use of underutilized crops, IPK, Gatersleben/IPGRI, Rome. pp. 199-256.
- Harborne, J. B. & F. A. Tomas-Barberan. 1991. Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids (Proceedings of the Phytochemical Society of Europe), Oxford University Press, USA, pp. 466.
- Heinrich, G.; H.W. Pfeiffer; E. Stabenheiner & T. Sawidis. 2002. Glandular Hairs of *Sigesbeckia jorullensis* Kunth (Asteraceae): Morphology, Histochemistry and Composition of Essential Oil. Annals of Botany, 89:459-469.
- Hong, S. S.; S. A. Lee; X. H. Han; M. H. Lee; J. S. Hwang; J. S. Park; K. W. Oh; K. Han; M. K. Lee; H. Lee; W. Kim; D. Lee & B. Y. Hwang. 2008. Melampolides from the Leaves of *Smallanthus sonchifolius* and Their Inhibitory Activity of LPS-Induced Nitric Oxide Production. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 56: 199-202.
- Hwang, D.; N. H. Fischer; B. C. Jang; H. Tak; J. K. Kim & W. Lee. 1996. Inhibition of the expression of inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines by sesquiterpene lactones in macrophages correlates with the inhibition of MAP kinases. Biochemical and Biophysical Research Communications, 226: 810-818.
- Inoue, A.; S. Tamogami; H. Kato; Y. Nakazato; M. Akiyama; O. Kodama; T. Akatsuka & Y. Hashidoko. 1995. Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smallanthus sonchifolius*. Phytochemistry, 39: 845-848.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw Hill Book Co. New York: 523.
- Kakuta, H.; T. Seki; Y. Hashidoko & J. Mizutani. 1992. Ent-kaurenic acid and its related compounds from glandular trichome exudate and leaf extracts of *Polymnia sonchifolia*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 56: 1562-1564.
- Lin F.Q.; M. Hasegawa & O. Kodama. 2003. Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 67: 2154-2159.
- Mercado, M. I.; G. I. Ponessa & A. Grau. 2006. Morfología y anatomía foliar de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae), con fines de control de calidad. Acta Farmacéutica Bonaerense, 25: 526-532.
- Mercado, M. I.; M. V. Coll Aráoz; A. Grau & C. A. N. Catalán. 2010. New acyclic diterpenic acids from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. Natural Product Communications, 5: 1721-1726.
- Monteiro, W. R; M. De Moraes Castro; S. C. Mazzoni-Viveiros & P. G. Mhalberg. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. Asteraceae. Revista Brasileira de Botânica, 24: 349-357.
- Picman, A. K. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. Biochemical Systematics and Ecology, 14: 255-281.
- Schorr K. & F. B. Da Costa. 2005. Quantitative determination of enhydrina in leaf rinse extracts and glandular trichomes of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) by reversed-phase high performance liquid chromatography. Phytochemical Analysis, 16: 161-165.
- Schorr K.; I. Merford & F. B. Da Costa. 2007. A novel melampolide and further terpenoids from *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) and the inhibition of the transcription factor NF- κ B. Natural Product Communications, 2: 367-374.
- Seminario, J.; M. Valderrama & I. Manrique. 2003. El Yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa (CIP) Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Perú, Pp 60.
- Simonovska B., I. Vovk , S. Andresek, K. Valentová & J. Ulrichová. 2003. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. Journal of Chromatography A, 1016: 89-98.
- Spring, O. 2000. Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes. Advances in Botanical Research, 31: 153-169.
- Valentová, K.; A. Lebeda; I. Dolezalova; D. Jirovsky; B. Simonovska; I. Vovk; P. Kosina; N. Gasmanova; M. Dziechciarkova & J. Ulrichová. 2005. The biological and chemical variability of yacón. Jour-

- nal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 1347-1352.
- Wagner, G. J.; E. Wang & R. W. Shepherd. 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*, 93: 3-11.
- Werker, E.; E. Putievsky; U. Ravid; N. Dudai & I. Katzir. 1994. Glandular hairs, secretory cavities, and the essential oil in leaves of tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.). *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 4: 19-32.
- Werker, E. & A. Fhan. 1981. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) Ait. - development, ultrastructure, and secretion. *Botanical Gazette*, 142:461-476.