

La producción de betacianinas es afectada por algunos factores extrínsecos e intrínsecos en plántulas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Gallardo, Miriam G.¹ y Prado, Fernando E.²

¹ Instituto de Ecología (Botánica) Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

² Cátedra de Fisiología Vegetal, Fac. de Cs. Naturales e IML, UNT. Miguel Lillo 205, (4000) Tucumán, Argentina.

R E S U M E N — Gallardo, Miriam G. y Prado, Fernando E., 2004. La producción de betacianinas es afectada por algunos factores extrínsecos e intrínsecos en plántulas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Lilloa* 41 (1-2). La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) hasta ahora sólo ha sido explotada como productora de semillas para la alimentación humana y animal. Sin embargo, esta especie podría convertirse en una potencial fuente de pigmentos naturales atóxicos, a través de una optimización de las condiciones de cultivo para conseguir incrementar la productividad de pigmentos. En este trabajo, se ha investigado el efecto de diferentes factores extrínsecos e intrínsecos sobre la producción de betacianinas en plántulas de quinoa. Los resultados mostraron que la biosíntesis de las betacianinas a nivel cotiledonar no depende de luz; a diferencia de lo que ocurre con el hipocótilo, donde la luz es un requerimiento indispensable. Si bien, los mecanismos reguladores de la producción de betacianinas son desconocidos, las evidencias aportadas en este trabajo demostrarían la existencia de algún tipo de mecanismo mediado por reguladores del crecimiento y dependiente del tipo de radiación. Así, mientras la luz fluorescente blanca mostró un efecto inductor sobre la biosíntesis, las radiaciones verde, UV-A y UV-B produjeron un efecto contrario. Los resultados obtenidos permiten suponer que a diferencia de lo que ocurre con los flavonoides y antocianos, las betacianinas no cumplirían ningún papel protector frente a la radiación UV-B. Se debate el posible rol desempeñado por las betacianinas.

Palabras claves: Betacianinas, quinoa, luz, reguladores del crecimiento vegetales, nutrientes.

S U M M A R Y — Gallardo, Miriam G. y Prado, Fernando E., 2004. Betacyanins production is affected by some extrinsic and intrinsic factors in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seedlings. *Lilloa* 41 (1-2). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) has only been so far exploited as a seed-producing plant for human and animal nourishment. However, it may become a potential source of natural atoxic pigments by means of an optimization of crop conditions. We carried out a study in order to know the effect of intrinsic and extrinsic factors on the production of betacyanins in quinoa seedlings. Results obtained revealed that the biosynthesis of betacyanins at a cotyledon level is not light-dependent, whereas for hypocotyle light is an essential requirement. Although, the regulatory mechanisms of betacyanins production are unknown, the evidence reported in this work would prove the existence of a certain type of mechanism mediated by growth regulators and dependent on the kind radiation. Thus, while fluorescent light exhibited an inducing effect on biosynthesis, green radiation, UV-A and UV-B showed an inhibiting effect. Results obtained allow us to assume that unlike what occurs with flavonoids and antocyanins, betacyanins would not play any protective role against UV-B radiation. The probable role of betacyanins is here discussed.

Key words: Betacyanins, quinoa, light, growth regulator, nutrients.

Introducción

La presencia de los pigmentos betalámicos se encuentra restringida solamente a especies de plantas incluidas en la mayoría de las familias pertenecientes al Orden de las Caryophyllales y ciertos hongos superiores, tales como *Amanita*, *Hygrocybe* y *Hygrosporus* (Delgado-Vargas et al., 2000). La «quinoa» (*Chenopodium quinoa* Willd) es un representante de la familia Chenopodiaceae, perteneciente al orden antes mencionado y se caracteriza por ser una planta cultivada en la zona Andina, muy valorada desde el punto de vista alimenticio. Por otra parte, su uso como colorante textil resulta también bastante frecuente en su región de origen (Jacobsen et al., 1993).

La quinoa posee una pigmentación rojiza en distintas partes de la planta, especialmente en los tallos y hojas de algunas variedades (Rissi et al., 1984). Esta coloración se debe a la presencia de pigmentos nitrogenados, solubles en agua, derivados del ácido betalámico conocidos con el nombre de «betacianinas» (Piattelli, 1981). Las betacianinas como pigmentos naturales se caracterizan por ser atóxicos, hecho que las convierte en una importante fuente de colorantes para la industria alimenticia, siendo la remolacha (*Beta vulgaris*) la principal fuente de los mismos (Mabry, 1980; Drak et al., 1992; von Elbe et al., 1972; 1974; 1975; Wohlpart et al., 1968a; Goldman et al., 1996).

A pesar de ello, la quinoa no es considerada como una fuente de pigmentos betacianínicos, debido a la falta de estudios sobre los mismos. Sin em-

bargo, en otras especies tales como *Phytolaca americana*, *Gomphrena globosa*, *Portulaca grandiflora*, *Amaranthus caudatus*, *A. tricolor*, *Chenopodium rubrum* y *Celosia plumosa*, la producción de pigmentos betalámicos ha sido detalladamente analizada. (Hirose et al., 1990; Kumon et al., 1990; Chang et al., 1974; Wohlpart et al., 1968 a y b; Minale et al., 1967; Elliot, 1983; Giudici de Nicola et al., 1972; Piattelli et al., 1964; Strack et al., 1988; Giudici de Nicola et al., 1973 a y b)

En función de todo esto, el presente trabajo está orientado a establecer si la síntesis de betacianinas en plántulas de quinoa resulta órgano independiente y como la misma resulta afectada por diferentes factores extrínsecos e intrínsecos.

Materiales y métodos

- Material vegetal y condiciones de cultivo. Se usaron plántulas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad «Chucapaca». Las plántulas se obtuvieron en oscuridad sobre vermiculita en bandejas de plástico de 14 x 18 x 5 cm. Las plántulas luego de permanecer 3 días en oscuridad se pasaron a invernadero bajo régimen de iluminación provisto por 12 tubos de luz fluorescente blanca de 40 W cada uno, con una intensidad de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en la parte superior de las plántulas, fotoperíodo de 12:12 h luz/oscuridad, humedad relativa del 60% y temperatura de 25-28 °C.
- Extracción y determinación de betacianinas. Las determinaciones de pigmentos se hicieron en hipocótilo y en

cotiledones, provenientes de 100 plántulas. La extracción se realizó de acuerdo al procedimiento de Strack et al. (1988), mediante homogeneización del tejido en mortero de porcelana con metanol al 50%. El extracto obtenido se centrifugó a 3.500 rpm durante 15 minutos y recentrifugado, en centrífuga refrigerada, a 10.000 rpm durante otros 10 minutos. El sobrenadante resultante se utilizó como fuente de betacianinas. El contenido pigmentario se estimó midiendo la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV-vis. (Metrolab 1700).

- Lugar de síntesis. Plántulas de 3 días de edad crecidas en oscuridad fueron separadas en sus componentes: cotiledones, hipocótilo y radícula. Otro grupo fue desprovisto únicamente de los cotiledones y un tercero solamente de las radículas. Una vez realizado esto, se colocaron los diferentes órganos sobre algodón humedecido con agua destilada y se irradiaron con luz fluorescente blanca continua durante 5 días.

- Efecto de la luz. Plántulas etioladas de 3 días fueron sometidas, durante 5 días, a iluminación continua con diferentes tipos de radiación: azul, fluorescente blanca, verde, roja, incandescente, UV-B y UV-A, provistas por lámparas Osram y Q-Panel. El nivel de radiación incidente fue de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}$ (medida con luxómetro digital Marca TES, Modelo, TES 1332). Luego de completado el período de iluminación, se procedió a la extracción y estimación de las betacianinas. Como control se utilizó un lote de plántulas que se mantuvo bajo iluminación con luz solar.

- Efecto de la radiación UV-B. Plántulas de 3 días crecidas bajo radiación

fluorescente blanca y con fotoperíodo 12:12 h, fueron sometidas diariamente, en la mitad del fotoperíodo, a dosis crecientes de 4 h de duración cada una de radiación UV-B, provista por lámparas emisoras de UV-B (Q-Panel). La irradiancia a la altura de las plántulas fue de $7,5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ (medido con radiómetro Serie 9811 Cole Palmer Instrument Co Chicago, USA). Dicho nivel de radiación es equivalente al promedio en San Miguel de Tucumán entre las 12-14 h bajo un cielo despejado del mes de Diciembre.

- Efecto de nutrientes. Para analizar el efecto de la nutrición mineral sobre la producción de betacianinas, se efectuaron germinaciones, en las condiciones antes descritas, usando para riego distintas diluciones de solución nutritiva de Hoagland (1:4, 1:8, 1:16, 1:32 y 1:64).

- Efecto de reguladores del crecimiento y salicilaldoxima. Para analizar el efecto de los reguladores de crecimiento y la salicilaldoxima (SAL), las semillas se hicieron germinar con diferentes concentraciones de: cinetina, ácido abscísico (ABA), ácido α -naftalén acético (ANA), ácido giberélico (AG_3), ácido salicílico (AS) y salicilaldoxima (SAL), ($2 \mu\text{M}$ y $10 \mu\text{M}$).

- Análisis estadísticos. Todos los ensayos se hicieron por triplicado con cuatro repeticiones por muestra. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de la varianza (ANOVA) y test de Tukey para $p < 0,05$.

Resultados

- Lugar de síntesis. Los resultados obtenidos mostraron que tanto el hipo-

cótilo como los cotiledones aislados alcanzaron gradualmente la típica coloración rojiza de las betacianinas a medida que progresaba el tiempo de exposición lumínica. Los valores finales obtenidos al final del ensayo resultaron similares a los de las plántulas control sin separación de órganos.

- **Efecto de la luz.** Las plántulas irradiadas continuamente con diferentes calidades de luz (azul, blanca fluorescente, verde, incandescente y roja exhibieron una notable variación en la producción de betacianinas según el tipo de radiación incidente, cuando se las compara con un control crecido bajo luz natural (Fig. 1). En el caso del hipocótilo la mayor producción de pigmento fue observada con luz blanca con valores incluso superiores a los del control. Con las restantes radiaciones los valores resultaron menores a

los del control, mostrando una descenso muy pronunciado en el caso de la radiación verde. La ausencia de luz inhibió totalmente la producción de betacianinas por el hipocótilo. Los cotiledones mostraron un patrón distributivo similar al hipocótilo, pero con niveles inferiores de betacianinas. Sin embargo, los cotiledones a diferencia de lo que ocurre con el hipocótilo si evidenciaron una determinada producción de pigmentos bajo condiciones de oscuridad.

- **Efecto de la cantidad de radiación UV-B.** Al analizar la producción de betacianinas según la cantidad de radiación UV-B recibida pudo observarse que con una dosis de 4 h, el contenido de pigmentos disminuye aproximadamente 42-45% tanto en hipocótilo como en cotiledones. La aplicación de las dosis subsiguientes de radiación

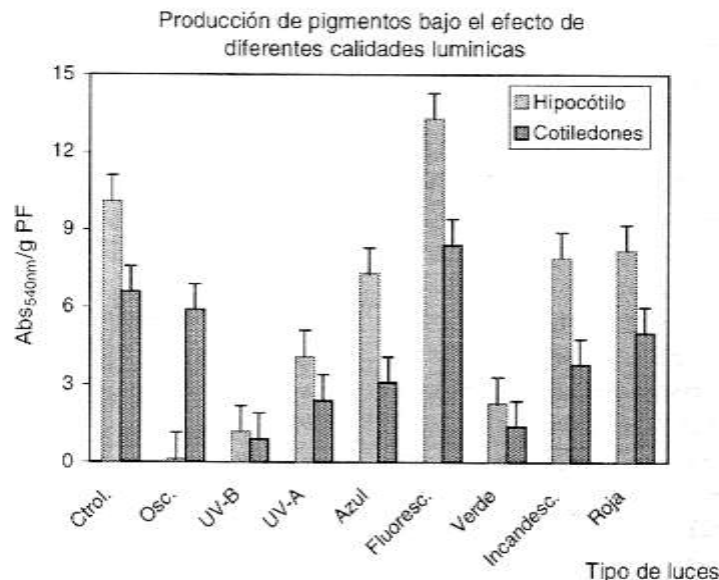


Figura 1. Efecto de diferentes radiaciones sobre la producción de betacianinas en hipocótilo y cotiledones de plántulas de quinoa.

sólo produjo una pequeña disminución en la producción de betacianinas a nivel del hipocótilo; en tanto que, para los cotiledones dicho tratamiento se tradujo en un moderado (25%) incremento en el contenido de pigmentos (Fig. 2).

- Efecto de nutrientes. El efecto de la concentración de nutrientes sobre la producción de betacianinas mostró un patrón distributivo inverso con relación a aquella. Así los mayores contenidos de pigmentos fueron observados a las menores concentraciones nutritivas, culminando con los valores más altos en las plantas control que fueron crecidas en ausencia de nutrientes (Fig. 3).

- Efecto de Reguladores del crecimiento y salicilaldoxima. Cuando las hormonas se aplicaron a bajas concentraciones se observó en la mayoría, un ligero efecto inhibitorio sobre la pro-

ducción de betacianinas tanto en hipocótilo como en cotiledones. El mayor efecto inhibitorio fue inducido por el ANA en los cotiledones, con una disminución en el contenido de betacianinas cercano al 50% (Fig. 4 A). La cinetina fue la única hormona que no ejerció efecto inhibitorio. Concentraciones más elevadas de los reguladores del crecimiento, prácticamente no produjeron cambios en el patrón inhibitorio, a excepción del ABA, AG₃ y cinetina donde el contenido pigmentario para los dos primeros mostró fuertes disminuciones en tanto que, para la última sus niveles no variaron significativamente con relación al control (Fig. 4 B). La SAL exhibió un comportamiento similar al del AS a menor concentración, pero su acción inhibitoria fue más leve cuando la concentración aumentó.

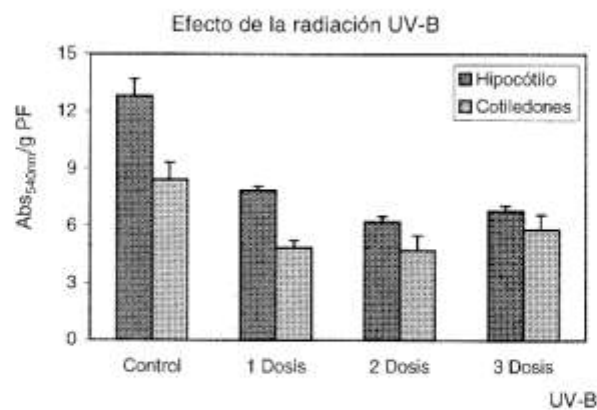


Figura 2. Producción de betacianinas en hipocótilo y cotiledones de plántulas de quinoa sometidas a diferentes dosis de radiación UV-B.

Control: luz fluorescente y fotoperíodo de 12 h.

1 Dosis: día 4: 4 h radiación UV-B por día, en la mitad del fotoperíodo.

2 Dosis: días 4 y 5: 4 h de radiación UV-B por día, en la mitad del fotoperíodo.

3 Dosis: días 4, 5 y 6: 4 h de radiación UV-B por día, en la mitad del fotoperíodo.

Discusión

● Lugar de síntesis. La acumulación de betacianinas en órganos aislados (hipocótilo y cotiledones) expuestos a luz fluorescente resultó idéntica al de las plántulas completas, lo que demostraría que la síntesis de betacianinas tiene lugar en forma independiente en cada órgano. Por su parte, la ausencia de betacianinas a nivel radicular probablemente obedezca a algún tipo de función específica de las betacianinas nivel de órganos aéreos. Obrenovic (1990) asegura que un aumento de la cantidad de pigmentos en órganos separados, probablemente se deba al efecto estimulador de la excisión. Esta aseveración resulta interesante desde el punto de vista funcional, por cuanto las betacianinas fueron relacionadas con una probable función protectora contra agentes patógenos por Sosnová en sus trabajos en hojas de remolacha infectadas por virus del mosaico del tabaco (Sosnová, 1970).

● Efecto de la luz. Al analizar el efecto de la luz sobre los hipocótilos provenientes de plántulas mantenidas en oscuridad se observó que los mismos carecían totalmente de betacianinas, lo que indicaría que la síntesis de pigmentos betacianínicos en *Ch. quinoa* es lumínico dependiente de un modo similar a lo que ocurre en *Ch. rubrum*, *A. tricolor* y *A. caudatus*, entre otras especies (Wohlpart, et al., 1968a; Wagner et al., 1970; Piattelli, 1976). Los cotiledones de las mismas plántulas, a diferencia de lo que ocurre con los hipocótilos, mostraron una evidente coloración anaranjado-rojiza, que al ser analizada espectroscópicamente confirmó la presencia de betacianinas. Sin embargo, al prolongar la permanencia de las plántulas en condiciones de oscuridad se observó una progresiva degradación de dicha coloración, que podría atribuirse a la necesidad de contar con un estímulo lumínico para sostener la síntesis pigmentaria. Esta suposición estaría de acuerdo con los

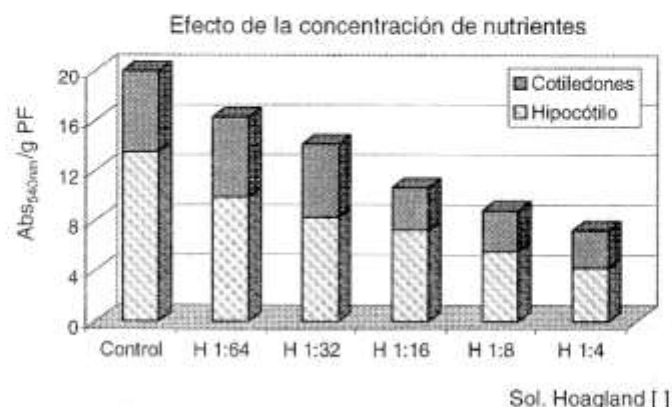


Figura 3. Producción de betacianinas en función de la concentración de nutrientes minerales (Solución de Hoagland) en hipocótilo y cotiledones de plántulas de quinoa.

Las evidencias aportadas por numerosos investigadores (Wagner et al., 1970; Piattelli, 1981; Giudici de Nicola, et al, 1973 a y b; Stafford, 1994) ponen de manifiesto que el estímulo lumínico sobre la síntesis de betacianinas, se ejerce a dos niveles diferentes: uno que involucra la activación directa o no de genes y otro la disponibilidad de compuestos ricos en energía. En el primer caso el efecto de la luz parece ser mediado por diversos fotorreceptores incluido el fitocromo; mientras que en relación al segundo se ha postulado una intervención inicial del fitocromo durante las primeras horas de iluminación, para luego dar paso a la actividad fotosintética que es la que aporta los compuestos ricos en energía (Piattelli, 1981). Este esquema se corresponde bastante bien con los resultados obtenidos en la quinoa, donde la síntesis pigmentaria resulta totalmente lumínico dependiente a nivel del hipocótilo mientras que, a nivel cotiledonar la misma, si bien, no es lumínico dependiente, su sostenimiento a lo largo del tiempo al parecer resulta dependiente del aporte fotosintético de compuestos energéticos.

El efecto inductivo de las luces roja, incandescente y azul fue similar al control, por lo que probablemente también ejerzan su acción a través de fotorreceptores tipo fitocromo como lo comunicó Stafford, (1994). Se sugirió una correlación entre la radiación azul y la acumulación de betacianinas en callos de *P. grandiflora* (Vogt et al., 1999). Sin embargo, la luz UV y azul pueden operar sinérgicamente a través de receptores separados, lo que ha sido demostrado para la regulación de la ex-

presión de genes CHS en *Arabidopsis*. La luz verde y UV-A fueron inefectivas en la acumulación de pigmentos probablemente debido a sus efectos inhibitorios sobre el crecimiento; los que a su vez, limitan la disponibilidad de compuestos ricos en energía.

- Efecto de la radiación UV-B. Wellmann y colaboradores (1976) comunicaron que en cultivos celulares de *Haplopappus gracilis* crecidos en oscuridad y sometidos a luz ultravioleta por debajo de 345 nm (UV-B), se estimulaba la formación de antocianos. Los mismos autores trabajando con cultivos celulares de perejil encontraron una correlación lineal entre la dosis de radiación UV-B y la acumulación de flavonoides, pigmentos que cumplen una importante función protectora contra la radiación UV. La baja producción de betacianinas observada en plántulas de quinoa irradiadas con luz UV-B supondría que dichos pigmentos no estarían cumpliendo la misma función protectora que los flavonoides; por lo que resultaría factible relacionar la producción de betacianinas con aspectos ligados a otros factores de estrés.

- Efecto de nutrientes. Al analizar la producción de betacianinas en función de la cantidad de nutrientes minerales aportados, se observa la existencia de una correlación inversa entre ambos parámetros. Esta situación, aparentemente fuera de lo normal, probablemente obedezca al hecho de que la quinoa al estar capacitada para crecer en zonas donde la disponibilidad de nutrientes es escasa, podría haber alcanzado, a través de la síntesis de betacianinas como reservorio de nitrógeno, una adaptación metabólicamente

exitosa para prosperar en aquellas zonas con pocos nutrientes. Esta suposición estaría avalada por el hecho de que alcaloides junto a otros productos secundarios del metabolismo que contienen nitrógeno en sus moléculas, tal el caso de las betacianinas, han sido considerados también como potenciales reservorios metabólicos de nitrógeno (Herbert, 1989).

• Efecto de reguladores del crecimiento y salicilaldoxima. Los efectos de las citocininas, en muchos casos, resultan difíciles de interpretar, por cuanto se sabe que dichas sustancias afectan un amplio rango de procesos dentro del metabolismo vegetal. Con relación a la producción de betacianinas, el efecto de las citocininas resulta amplio en aquellas plantas con requerimientos lumínicos para la síntesis y moderado en las capaces de producir los pigmentos en oscuridad (Piattelli, M. 1981). Por otra parte, el mismo autor ha comunicado la existencia de un marcado sinergismo entre citocininas y luz en cultivos celulares de *Amaranthus tricolor*. Sin embargo, dicho sinergismo no ha sido encontrado en el caso de la quinoa, en coincidencia con lo comunicado por Bianco-Colomas y Hugues, quienes propusieron que tal interacción es sólo parcial y efectiva únicamente en algunos pasos del proceso biosintético de las betacianinas (Bianco Colomas et al., 1990).

El GA₃ resultó un fuerte inhibidor de la producción de betacianinas luz-dependiente en plántulas de quinoa, en coincidencia con lo reportado para *A. caudatus*, *A. tricolor* y *Celosia argentea*, (Elliott, 1977; Bianco-Colomas et al., 1990). En cuanto al mecanismo

inhibitorio del GA₃ se ha propuesto que el mismo actuaría controlando la disponibilidad de tirosina que es precursor de betacianinas (Piattelli, M. 1981). En relación al ABA y al ANA, ambos resultaron inhibidores de la síntesis de betacianinas, en coincidencia con los resultados obtenidos por Elliott en *A. tricolor*, quien postuló que el efecto inhibitorio de dichas hormonas se ejerce mediante alteraciones en la permeabilidad de la membrana (Elliott, 1979).

La SAL exhibió un comportamiento similar al del AS en la inhibición de la biosíntesis de betacianinas, en ambos órganos de plántulas de quinoa, este efecto podría ser explicado por los hallazgos de Giudici de Nicola y colaboradores (1972), quienes demostraron que la SAL inhibe la síntesis de enzimas relacionadas con fosforilación oxidativa, la cual interviene en la regulación de la producción de betacianinas. En el caso del AS, pequeñas cantidades activan el gen que codifica la oxidasa alternativa. Esta enzima a su vez, activa la respiración insensible al cianuro y por lo tanto la vía glicolítica y el ciclo de Krebs, que proveen el sustrato para la oxidasa alternativa, (Crozier, et al., 2000) derivando esqueletos carbonados hacia esas rutas metabólicas y por lo tanto es de esperar que haya una menor disponibilidad de carbono para la síntesis de otros compuestos tales como betacianinas.

Los resultados aportados en este trabajo ponen de manifiesto la complejidad de factores extrínsecos e intrínsecos, que actuarían modulando la producción de betacianinas en plántulas de quinoa y que determinan, la nece-

NA

sidad de continuar los estudios a fin de poder dilucidar completamente el rol desempeñado por los factores ambientales e internos en el metabolismo de dichos pigmentos.

Conclusiones

— La síntesis de betacianinas resultó ser lumínico-dependiente en hipocótilo no así en cotiledones.

— El contenido de pigmentos no aumenta con la exposición a la luz UV-B, por lo que se descartaría un rol de pigmentos pantalla para las betacianinas.

— La carencia de nutrientes minerales actuaría como factor desencadenante de la síntesis de betacianinas.

— La mayoría de los reguladores del crecimiento, a excepción de las citocininas, actuarían como inhibidores de la producción de betacianinas.

Estas conclusiones son un aporte mas al conocimiento del metabolismo de las betacianinas en esta planta altoandina, cuya potencialidad como fuente alternativa de colorantes naturales atóxicos aún no ha sido explotada.

Agradecimientos

Parte de este trabajo se realizó con fondos provenientes del CIUNT (Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán). Asimismo deseamos expresar también nuestro sincero agradecimiento a la Dirección del Area Botánica de la Fundación Miguel Lillo y al personal de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Naturales e IML de la UNT,

por el apoyo y colaboración recibidos durante la realización de este trabajo.

Bibliografía

- Bianco-Colomas, J. & M. Hugues. 1990. Establishment and characterization of a betacyanin producing cell line of *Amaranthus tricolor*: Inductive effects of light and cytokinin. *Journal of Plant Physiology* 136: 734-739.
- Chang, L.; Kimler & T. J. Mabry. 1974. Biogenesis of betalamic acid. *Phytochemistry* 13: 2771-2775.
- Crozier A.; Y. Kamiya; G. Bishop & T. Yokota. 2000. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. En: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Eds: Buchanan, B.B.; Gruissen W. & Jones R.L., pp.: 850- 929.
- Delgado-Vargas, F.; A. Jimenez & O. Paredes-Lopez. 2000. Betalains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40: 251-289.
- Drak, R.; C. Altamirano; A. Rajniakova; P. Simko; J. Karovikova & D. Benkovska. 1992. Red beet pigment composition. Effects of fermentation by different strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science* 57: 935-936.
- Elliot, D. C. 1979. Ionic regulation for cytokinin-dependent betacyanin synthesis in *Amaranthus* seedlings. *Plant Physiology* 63: 264-268.
- Elliot, D. C. 1983. The pathway of betalain biosynthesis: Effect of cytokinin on enzymic oxidation and hydroxylation of tyrosine in *Amaranthus tricolor* seedling. *Physiologia Plantarum* 59: 428-437.
- Giudici de Nicola, M.; M. Piattelli; V. Castrogiovanni & V. Amico. 1972. The effect of light and kinetin on amaranthin synthesis in relation to phytochrome. *Phytochemistry* 11: 1011-1017.
- Giudici de Nicola, M.; M. Piattelli & V. Amico. 1973a. Photocontrol of betaxanthin synthesis in *Celosia plumosa* seedlings. *Phytochemistry* 12: 353-357.
- Giudici de Nicola, M.; M. Piattelli & V. Amico. 1973b. Effect of continuous far red on betaxanthin and betacyanin synthesis. *Phytochemistry* 12: 2163-2166.
- Goldman, I. L.; K. A. Eagen; D. N. Breitbart & W. H. Galberman. 1996. Simultaneous

- selection is effective in increasing betalain pigment concentration but not total dissolved solids in red beet. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 121: 23-26.
- Herbert, R. B. 1989. En: *The biosynthesis of secondary metabolites*, ed. Chapman and Hall 2nd edition.
- Hirose, M.; T. Yamakawa; T. Kodama & A. Komamine. 1990. Accumulation of betacyanin in *Phytolacca americana* cells and of anthocyanin in *vitis sp.* cells in relation to cell division in suspension cultures. *Plant & Cell Physiology* 31: 267-271.
- Jacobsen, S. E. & O. StÅlen. 1993. Quinoa: Morphology, phenology and prospects for its production as a new crop in Europe. *European Journal of Agronomy* 2 (1): 19-29.
- Kumon, K.; J. Sasaki, M. Sejima; Y. Takeuchi & Y. Hayashi. 1990. Betacyanin-decolorizing enzymes from *Phytolacca americana*. *Plant & Cell Physiology* 31: 233-240
- Mabry, T. J. 1980. Betalains. En: *Encyclopedia of plant physiology, secondary plant products*. 8: 513-533. Springer Verlag, NY.
- Minale, L.; M. Piattelli & S. De Stefano. 1967. Pigments of Centrospermae VII. Betacyanins from *Gomphrena globosa* L. *Phytochemistry* 6: 703-709.
- Obrenovic, S. 1990. Effect of hypocotyl excision on red light-mediated betacyanin formation in *Amaranthus* seedlings. *Annals of Botany* 66: 245-248.
- Piattelli, Mario & Luigi Minale. 1964. Pigments of Centrospermae I. Betacyanins from *Phyllocactus hybridus* Hort. and *Opuntia Ficus-indica* Mill. *Phytochemistry* 3: 307-311.
- Piattelli, Mario. 1976. Betalains. En: *Chemistry and Biochemistry of Plants Pigments*, ed. T. W. Godwin 2nd edition. Vol. 1: 560-592.
- Piattelli, Mario. 1981. The Betalains: Structure, biosynthesis, and chemical taxonomic in *Biochemistry of Plants*. Vol. 7 : 557-573 Ed. E. E. Conn. Academic Press Inc, NY.
- Rissi, C. & N. W. Galwey. 1984. The *Chenopodium* grains in the Andes: Inca crops for modern agriculture. *Advances in Applied Biology*. 10: 145-216.
- Sosnová, Vera. 1970. Reproduction of sugar beet mosaic and tobacco mosaic viruses in anthocyanized beet plants. *Biologia Plantarum* 12: 424-427.
- Stafford, H. A. 1994. Anthocyanin and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Science* 101: 91-98.
- Strack, D.; M. Bokern; N. Marxen & V. Wray. 1988. Feruloylbetain from petals of *Lampranthus* and feruloylamaranthin from cell suspension cultures of *Chenopodium rubrum*. *Phytochemistry* 27: 3529-3531.
- Vogt, T.; M. Ibdah; J. Schmidt; V. Wray; M. Nimtz, & D. Strack. 1999. Light-induced betacyanin and flavonol accumulation in bladder cells of *Mesembryanthemum crystallinum*. *Phytochemistry* 52: 583-592.
- von Elbe, J. H.; S. Huisy; I. Maing & W. H. Gabelman. 1972. Quantitative analysis of betacyanins in red table beets (*Beta vulgaris*). *Journal of Food Science* 37: 932-934
- von Elbe, J. H.; J. T. Klement; Ch. Amundson; R. G. Cassens & R. C. Lindsay. 1974. Evaluation of betalain pigments as sausage colorants. *Journal of Food Science* 37: 932-934.
- von Elbe, J. H. 1975. Stability of betalaines of foods colors. *Symposium: Utilization of plants pigments*. *Food Technology* 42-46
- Wagner, E. & B. Cumming. 1970. Betacyanin accumulation, chlorophyll content, and flower initiation in *Chenopodium rubrum* as related to endogenous rhythmicity and phytochrome action. *Canadian Journal of Botany* 48: 1-18.
- Wellmann, E.; G. Hrazdina & H. Grisebach. 1976. Induction of anthocyanin formation and of enzymes related to its biosynthesis by UV light in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochemistry* 15: 913-915.
- Wohlpart, A. & T. J. Mabry. 1968a. The distribution and phylogenetic significance of the betalains with respect to the Centrospermae. *Taxon* 17: 148-152.
- Wohlpart, A. & T.J. Mabry. 1968b. On the light requirement for betalain biogenesis. *Plant Physiology* 43: 457-459.