

Variación estacional del contenido de betalaína en betarraga (*Beta vulgaris* L.) cultivada en condiciones de salinidad en el valle de Lluta, Norte de Chile

Seasonal variation of betalaine content in beetroot (Beta vulgaris L.) cultivated under salinity conditions in Lluta valley, Northern Chile

Fabiola Astorga¹, Nancy Luna¹, Gisell Gómez¹, Richard Bustos¹,
Patricia Pacheco¹, Wladimir Esteban¹, Yeny Angel¹, Elizabeth Bastías^{1*}

RESUMEN

La betarraga (*Beta vulgaris* L.) es reconocida por su composición de moléculas bioactivas como la betalaína, que hacen que su consumo aporte importantes beneficios para la salud del ser humano. Su síntesis estaría influenciada por factores como la salinidad, uno de los principales estreses que caracterizan al valle costero desértico de Lluta, ubicado en el extremo norte de Chile, y que junto con el exceso de boro limitan la diversificación agrícola a cultivos tolerantes a esa condición ambiental. En este estudio se evaluó el efecto de la salinidad y la temperatura estacional en la síntesis de betalaína (betacianina y betaxantina) en las variedades Detroit (T₀) y Larka (T₁). Se observó que existen diferencias estadísticas significativas en la síntesis de ambas biomoléculas entre las variedades, no así entre las temporadas de cultivo. Los resultados, en cuanto a la síntesis y contenido de betalaína, dan cuenta de la factibilidad de incorporar a Larka como una alternativa productiva para el valle de Lluta, y destinar su producción al consumo fresco o como materia prima para la industria dedicada a la extracción de pigmentos naturales.

Palabras clave: pigmento, antioxidante, estrés.

ABSTRACT

Beetroot (Beta vulgaris L.) is recognized for its composition of bioactive molecules such as betalaine, which makes its consumption significantly beneficial for human health. Its synthesis would be influenced by factors such as salinity, one of the main stresses that characterize the coastal desert valley of Lluta, located in the northern of Chile, added to these characteristics is the excess of boron that limits agricultural diversification of the valley to crops tolerant to this environmental condition. In the present study, the effect of salinity and seasonal temperature on the synthesis of betalaine (betacyanin and betaxanthin) in the Detroit (T₀) and Larka (T₁) varieties were evaluated, there are significant statistical differences in the synthesis of both biomolecules amongst varieties, not so between growing seasons. The results, as regards the synthesis and content of betalaine, show the feasibility of incorporating Larka as a productive alternative for the Lluta Valley, being possible to allocate its production to fresh consumption or as a raw material for the industry dedicated to the extraction of natural pigments.

Keywords: pigment, antioxidant, stress.

Introducción

Entre las adaptaciones que suelen presentar algunas plantas en respuesta al desarrollo en condiciones de estrés salino, se encuentra la síntesis de sustancias protectoras o moléculas bioactivas (Stagnari *et al.*, 2014) como la betalaína contenida en miembros del orden Caryophyllales (Cai *et al.*, 2005), al cual pertenece la betarraga

(*Beta vulgaris* L.). El cultivo de esta planta en los últimos años ha llamado la atención científica internacional al ser considerada un alimento con características funcionales benéficas para la salud del ser humano (Clifford *et al.*, 2015) y una potencial fuente de minerales, antioxidantes, azúcar, fibra dietética, vitaminas, ácidos grasos y biomoléculas con alguna actividad biológica, anticancerígena y radioprotectora (Escribano

¹ Universidad de Tarapacá, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Agrícola. Arica, Chile.

* Autor por correspondencia: ebastias@uta.cl

et al., 1998). Dentro de su composición se ha identificado la betaxantina, que exhibe una coloración amarillo-naranja y contiene diferentes cadenas laterales de aminoácidos o aminas. En este grupo se incluyen la indicaxantina y vulgaxantinas I y II. Por otra parte están las betacianinas, de coloración rojo-violeta, que contienen un residuo de ciclo-dihidro xifenilalanina (ciclo-DOPA) e incluyen la betanina, isobetanina y neobetanina (Chhikara *et al.*, 2019). Todos estos compuestos son reconocibles comercialmente como colorantes alimentarios debido a su naturaleza no precaria, no tóxica y no cancerígena.

Su síntesis estaría influenciada por factores como la variedad (Niveyro *et al.*, 2013), estado de maduración (Castellar *et al.*, 2012), incremento de la temperatura (Szopínska y Gaweda, 2013), salinidad (Mulry *et al.*, 2015), luz, nutrientes, reguladores de crecimiento (Bhuiyan *et al.*, 2002) y disponibilidad de agua (Stagnari *et al.*, 2014). En la actualidad existen muy pocos estudios conducentes a evaluar los efectos de los estreses abióticos en la producción y acumulación de esas biomoléculas en este cultivo. En tal sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la acumulación de ese pigmento en las raíces de betarraga, en dos estaciones del año, en condiciones de salinidad y temperatura del valle de Lluta, ubicado en el norte de Chile, surgiendo como una posibilidad de diversificación productiva para esta zona salina.

Materiales y métodos

Sitio del experimento

El cultivo se realizó al aire libre durante dos estaciones del año (temporada 1: cosecha de frutos hecha en el verano del 2013 (91 Días Después de Trasplante (DDT) y temporada 2: cosecha de frutos en invierno-primavera del año 2014 (99 DDT)) en la parcela experimental de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Tarapacá, km 19, sector Rosario del valle de Lluta. Las características químicas del agua de riego y suelo se presentan en las Tablas 1 y 2.

El material vegetal utilizado para la cuantificación de betalaína incluyó la variedad **Detroit** (T_0) de la empresa Bonanza Seeds que es la más cultivada en el valle de Lluta. Se caracteriza por su forma aglobada y piel lisa, así como por su alta uniformidad y productividad. Puede

sembrarse durante todo el año y tiene maduración comercial a los 60 días. El segundo tratamiento (T_1) correspondió a la variedad **Larka** de la empresa Semillas Latinoamericanas, una betarraga multigérmica, de precocidad media y follaje vigoroso. Presenta raíces muy homogéneas, redondas y de color rojo intenso. Es recomendada para cultivos de verano y otoño.

Se realizó siembra directa en el terreno previamente preparado con una mezcla de arena y guano de cordero, utilizando un marco de plantación de 0,2 x 1,2 m (41.666 plantas ha⁻¹) y un largo de camellón de 27 m. Durante su desarrollo el cultivo fue regado por goteo y fertilizado según sus requerimientos.

El registro meteorológico de las variables temperatura (°C) y humedad relativa (%) de los meses de estudio (Tabla 3) se obtuvo de las estaciones en línea de la Red Agrometeorológica (AGROMET) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Diseño experimental y tratamientos:

El experimento se realizó con un diseño de bloques completos al azar, con 2 tratamientos (T_0 : Detroit y T_1 : Larka), 4 repeticiones y una superficie total de 259,2 m² por tratamiento.

La cuantificación de betalaína se hizo en 3 etapas: pre-tratamiento de la muestra, preparación de muestras con N₂ líquido y liofilización.

Pre-tratamiento de la muestra: Se colectaron 4 muestras homogéneas de cada bloque, de ambas variedades, seleccionando la cuarta parte de cada fruto del bloque (incluida la cáscara) para ser lavadas, ralladas y almacenadas en bolsas herméticas refrigeradas a 5 °C.

Tratamiento con nitrógeno líquido: En un mortero se incorporó una pequeña cantidad de betarraga rallada a la que se agregaron pequeñas dosis de nitrógeno líquido hasta cubrir por completo la muestra para su trituración, pulverización y posterior depósito en tubos falcon de 50 ml, mantenidos en un cooler con hielo. El material congelado se introdujo en una cámara de vacío (liofilizador modelo BK-FDI0P, Biobase Biodustry (Shandong) Co., Ltd.) para realizar la separación del agua de las muestras por sublimación. Para acelerar el proceso se utilizaron ciclos de congelación-sublimación y se consiguió eliminar la totalidad del agua libre contenida. Para la

Tabla 1. Características químicas promedios de agua de riego, Temporada 1 y Temporada 2. Sector Rosario, km 19, valle de Lluta.

Parámetro	Unidad	Método	Temporada 1	Temporada 2
Ce (Extracto Sat.)	mS cm ⁻¹	Conductimetría	2,44	2,76
pH (Agua)	–	Potenciométrico	7,16	7,68
Calcio (Ca ²⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	185,14	282
Magnesio (Mg ²⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	39,14	38,64
Potasio (K ⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	32,8	29,5
Sodio (Na ⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	250,2	215,72
Cloruros (Cl ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	489,6	511,2
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	379,15	426
Nitrato (NO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	3,86	2,42
Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	73,2	183
Carbonato (CO ₃ ²⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	ND	ND
Boro (B)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	10,85	14,5

Fuente. Laboratorio de suelo y agua, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá. Años 2013 y 2014. *ND: No detectable.

Tabla 2. Características químicas promedios de suelo, Temporada 1 y Temporada 2. Sector Rosario, km 19, valle de Lluta.

Parámetro	Unidad	Método	Temporada 1	Temporada 2
Ce (Extracto Sat.)	mS cm ⁻¹	Conductimetría	27,4	107,1
pH (Agua) (Maff 1:2,5)	–	Potenciométrico	7,2	6,3
N-NO ₃ Disponible	mg Kg ⁻¹	Fenoldisulfónico	14,6	38,7
P-Disponible	mg Kg ⁻¹	Olsen	120,5	20,8
K-Disponible	mg Kg ⁻¹	Acetato amonio	1477,5	2012,5
Materia Orgánica	%	Dicromato sodio	1,6	2,0
Calcio (Ca ²⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	1297,5	3960,5
Magnesio (Mg ²⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	592,5	3045,0
Potasio (K ⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	412,5	912,5
Sodio (Na ⁺)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	3547,5	652,5
Cloruros (Cl ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	2978,9	43878,0
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	8287,6	1737,0
Nitrato (NO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	26,2	283,4
Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	219,6	213,5
Carbonato (CO ₃ ²⁻)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	ND*	ND*
Boro (B)	mg L ⁻¹	Extracto Sat.	13,2	51,2

*ND: No detectable.

Fuente. Laboratorio de suelo y agua, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá. Años 2013 y 2014.

Tabla 3. Registro meteorológico del sector de estudio.

Mes	Temporada 1 (Verano)			Mes	Temporada 2 (Invierno-Primavera)		
	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Humedad Relativa (%)		Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Humedad Relativa (%)
Octubre 2013	9,5	25,0	70,8	Mayo 2014	7,1	23,9	71,9
Noviembre 2013	7,9	27,3	67,0	Junio 2014	6,1	21,8	75,9
Diciembre 2013	11,5	28,5	62,9	Julio 2014	5,0	24,2	76,6
Enero 2014	13,8	30,9	57,3	Agosto 2014	6,5	25,6	76,7
Promedio	10,7	27,9	64,5	Promedio	6,2	23,9	75,3

Fuente. Red Agrometeorológica (AGROMET), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), 2017.

cuantificación del contenido total de betalaína se utilizó la metodología indicada por Fernández-López y Almela (2001) mediante evaluación espectrofotométrica (HPLC-grade).

Extracción de betalaína: Se tomó una muestra de 2 g de pulpa liofilizada y se colocó en un matraz Erlenmeyer con 20 ml de metanol acuoso 80% (V/V). La mezcla se sonicó por 10 minutos en un Bath sonicador (Branson model® Danbury, USA) previo a su agitación por 20 minutos en un agitador horizontal (modelo G10 R, New Jersey, USA) a temperatura ambiente y en oscuridad. Cada muestra se centrifugó a 2200 x g por 10 minutos en una centrífuga (Hettich Zentrifugen® Mod. Universal 32, Germany). El sobrenadante se guardó y el residuo se sometió a una segunda extracción con la metodología descrita anteriormente. Los sobrenadantes se juntaron y se filtraron con papel Whatman Número 4, para luego concentrarlos a sequedad en un rotavapor (Buchi® Modelo R-125, Switzerland) a 40 °C.

Cuantificación: La cuantificación de betacianinas y betaxantinas se realizó según lo descrito por Castellanos-Santiago y Yahia (2008), mediante la absorbancia de los extractos de las betalaínas a 538 y 483 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro (Perkin Elmer Lambda 25® UV/Vis, (USA)). Para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizó la expresión: $B \text{ (mg/g)} = (A \times FD \times PM \times V) / (\epsilon \times P \times L)$, donde B es betacianina o betaxantina, A es la absorbancia 538 nm para betacianina y 483 nm para betaxantina, FD es el factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro, PM es el peso molecular (Betanina = 550 g/mol e Indicatina = 308 g/mol), V es el volumen del extracto, ϵ es el peso molecular (Betanina = 60.000 L/mol cm, e Indicatina = 48.000 L/mol cm) y L es la longitud de la celda (1 cm). Considerando lo anterior, se realizó el cálculo mediante la expresión matemática:

$$CB \text{ (mg/g.ps)} = (A * FD * MW + V) / \epsilon * \text{peso seco}$$

Donde:

CB= Contenido de betalaína

A= Absorbancia

F= Factor peso molecular

V=Volumen total

E= Coeficiente de extinción

*Para betacianinas se utilizó una masa de 550 g/mol y un E = 60.000, y para betaxantina una masa de

308 g/mol y un E = 48.000 (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008).

Análisis de datos

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 22/PC (2013) y la prueba T de Student para dos pruebas independientes con $P \leq 0,05$ (95%).

Resultados

Contenido de betacianina

Durante la temporada 1 (Tabla 4) se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la síntesis de betacianina entre T_0 (1,41 mg g⁻¹ PS) y T_1 (3,38 mg g⁻¹ PS), con resultados similares durante la temporada 2 (1,32 mg g⁻¹ PS en Detroit y 3,32 mg g⁻¹ PS en Larka). Se observaron diferencias estadísticas en la síntesis del pigmento entre ambas variedades. Al comparar el contenido de betacianina en T_0 , entre temporadas, no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la síntesis de esta biomolécula, comportamiento que se observó notoriamente también en T_1 .

Contenido de betaxantina

Los resultados observados durante la temporada 1 mostraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en cuanto a la síntesis de betaxantina entre T_0 y T_1 (3,34 y 6,31 mg g⁻¹ PS, respectivamente). Esta tendencia se repitió durante la temporada 2 (3,43 y 6,63 mg g⁻¹ PS, respectivamente).

Al comparar el contenido de betaxantina en T_0 , entre ambas temporadas (3,34 y 3,43 mg g⁻¹ PS, respectivamente), no se detectaron diferencias estadísticas significativas en cuanto a su síntesis, comportamiento similar al observado en T_1 (6,31 y 6,63 mg g⁻¹ PS, respectivamente).

Por otra parte, en ambas temporadas se observó un mayor contenido de betaxantinas, respecto a betacianinas, en los dos tratamientos (Tabla 4), y hubo diferencias significativas en la síntesis entre ambos pigmentos.

Rendimiento de frutos

Los rendimientos en la temporada 1 mostraron diferencias significativas entre T_0 y T_1 (15,1 y 9,42 Ton ha⁻¹, respectivamente), tendencia similar a la

Tabla 4. Síntesis de betacianina y betaxantina, Temporada 1 y Temporada 2. Sector Rosario, km 19, valle de Lluta.

Temporada 1 (Verano)						
Variedad	Betacianina			Betaxantina		
	mg g ⁻¹ PS	MS (g/Ha)	Contenido por superficie (g/Ha)	mg g ⁻¹ PS	MS (g/Ha)	Contenido por superficie (g/Ha)
Detroit (T ₀)	1,41 ± 0,05	1.077.139	1.519	3,34 ± 0,85	1.077.139	3.598
Larka (T ₁)	3,38 ± 0,81	672.445	2.273	6,31 ± 2,01	672.445	4.243
Temporada 2 (Invierno-Primavera)						
Variedad	Betacianina			Betaxantina		
	mg g ⁻¹ PS	MS (g/Ha)	Contenido por superficie (g/Ha)	mg g ⁻¹ PS	MS (g/Ha)	Contenido por superficie (g/Ha)
Detroit (T ₀)	1,32 ± 0,13	2.230.725	2.945	3,43 ± 0,87	2.230.725	7.651
Larka (T ₁)	3,32 ± 0,83	1.806.210	5.997	6,63 ± 2,32	1.806.210	11.975

(PS) : Peso seco.

(*) : Significativo con $p \leq 0,05$.

(MS): Materia seca.

registrada durante la temporada 2 (21,2 y 17,20 Ton ha⁻¹, respectivamente). T₀ fue el tratamiento que presentó en ambas temporadas el mayor rendimiento. Respecto al rendimiento de cada tratamiento, entre las temporadas 1 y 2, los resultados mostraron la existencia de diferencias estadísticas en el de T₀ y T₁, y fueron significativamente mayores los rendimientos durante la temporada 2 (invierno-primavera), tanto en T₀ como en T₁ (Figura 1).

Discusión

Según Lee y Wiley (1981), la temperatura sería uno de los factores que tendrían un rol importante en la síntesis de las betalaínas durante el desarrollo

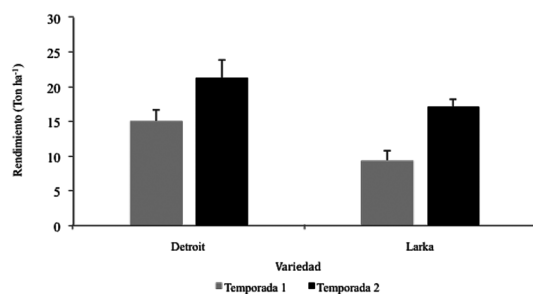


Figura 1. Rendimiento de betarraga (*Beta vulgaris* L.) variedades Detroit (T₀) y Larka (T₁), Temporada 1 y Temporada 2. Sector Rosario, km 19, valle de Lluta.

del cultivo. Sin embargo, los resultados obtenidos indicarían que el cambio de temporada, y con esto, la fluctuación de las temperaturas ambientales registradas durante los períodos evaluados (Tabla 3), no tendrían un efecto en la síntesis de este pigmento en T₀ y T₁, o tal vez no la afectarían en condiciones de campo.

Otros autores mencionan que la acumulación de betalaína podría estar influenciada por diversos factores, tanto bióticos como abióticos, y relacionarse con la variedad (Niveyro *et al.*, 2013), estado de madurez (Castellar *et al.*, 2012) y la concentración de micronutrientes en la planta (Tyszka-Czochara *et al.*, 2016). Entre los factores ambientales, el estrés salino sería uno de los principales precursores en la síntesis de este tipo de pigmento en respuesta al exceso de sales presentes en el medio (Jain y Gould, 2015a), y que caracteriza los suelos y el agua de riego del valle de Lluta (Bastías *et al.*, 2004). Al observar los análisis de ambas temporadas, tanto en agua como en suelo (Tabla 1 y 2), se evidencian altos y variables contenidos de sales con exceso de Na⁺, Cl⁻ y B que podrían inducir alguna respuesta fisiológica en cultivos poco tolerantes. Es el caso de T₁, que sintetizó un mayor contenido de betacianina y betaxantina, en ambas temporadas, siendo tal vez una variedad menos sensible a este tipo de estrés, respecto a T₀. El comportamiento

de T_1 coincidiría con el de las halófitas *Disphyma australe*, *Suaeda salsa* y *Portulaca oleracea*, que presentarían una mayor acumulación de betalaína en presencia de estrés salino (Jain y Gould, 2015b; Wang *et al.*, 2006; Mulry *et al.*, 2015).

Se destaca la diferencia entre los niveles de pigmentos sintetizados, duplicándose el contenido de betaxantina en ambas temporadas, tanto en T_0 como en T_1 (Tabla 4). Este último tratamiento (cv. Larka) fue el que acumuló un mayor contenido de pigmento en ambas temporadas. Esta mayor acumulación de betaxantina coincidiría con los resultados reportados por Valencia *et al.* (2017) en semillas de quinoa peruana.

Esta escasa documentación de menor o mayor síntesis de uno u otro pigmento y su funcionalidad en situaciones de estrés y, particularmente, en condiciones de salinidad, nos permite sugerir la importancia de realizar estos trabajos considerando el comportamiento de esta biomolécula bajo estrés abiótico.

Se sugiere que factores como la salinidad y el efecto varietal u otros, aún no evaluados, como los mencionados por Kujala *et al.* (2002) y Belhadj *et al.* (2017), podrían ser los reguladores o precursores en la síntesis de estas biomoléculas.

Respecto a los rendimientos, se pudo observar un mejor comportamiento de ambas variedades de betarragas durante la temporada de invierno-primavera. Se registraron resultados estadísticos más favorables en la variedad Detroit (T_0), debido posiblemente a las mejores características del agua de riego y las temperaturas más adecuadas que explicarían el mayor desarrollo y rendimiento del cultivo.

Si bien es cierto que T_0 alcanzó mayores rendimientos que T_1 , esta diferencia se compensaría en T_1 por la mayor concentración de betalaína (betacianina y betaxantina (g/Ha)) en las raíces de betarraga (Tabla 4), lo cual en definitiva es el

interés de la industria dedicada a la extracción de pigmentos, con un ahorro de insumos y agua.

Conclusión

La síntesis de betalaína en ambas variedades de betarraga no tendría una relación directa con la estacionalidad y la variación de temperaturas durante el desarrollo del cultivo. Existe, más bien, un efecto de la salinidad y de la variedad en la síntesis y acumulación de esta biomolécula en las raíces de Detroit y mayormente en Larka.

La temporada 2 (invierno primavera) favoreció el rendimiento de ambas variedades de betarraga y en especial el de Detroit, que fue mayor. No obstante, el contenido de betalaína por superficie fue mayor en Larka, en ambas temporadas. Por ello resulta interesante analizar si el destino de la producción de betarraga se orienta a la industria de la extracción y producción de pigmentos como materia prima.

Cabe destacar que la síntesis de estos pigmentos en betarraga cultivada en condiciones de campo y su respuesta a estrés abiótico (alta radiación, temperatura, salinidad y estrés hídrico) ha sido escasamente documentada. Se abre así un campo interesante para estudios que orienten respecto del incremento de la producción de estas biomoléculas en cultivos desarrollados en suelos marginales.

Agradecimientos

Proyecto Convenio de Desempeño UTA 1795. “Fortalecimiento de la investigación interdisciplinaria en los recursos genéticos agrícolas ancestrales y aumento de su valorización en los custodios de la Región de Arica y Parinacota” y el Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal, Universidad de Santiago de Chile (USACH).

Literatura Citada

- Bastías, E.; González-Moro, M.; González-Murua, C.
2004. *Zea mays* L. amylacea from the Lluta Valley (Arica-Chile) tolerates salinity stress when high levels of boron are available. *Plant and Soil* 267: 73-84.
- Belhadj Slimen, I.; Najar, T.; Abderrabba, M.
2017. Chemical and antioxidant properties of betalains. *J. Agric. Food Chem.* 65: 675-689.
- Bhuiyan, N.; Murakami, K.; Adachi, T.
2002. Variation in betalain content and factors affecting the biosynthesis in *Portulaca* sp. “Jewel” cell cultures. *Plant Biotechnology* 19 (5): 369-376.
- Cai, Y.; Sun, M.; Corke, H.
2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Foods Science & Technology* 16: 370-376.
- Castellanos-Santiago, E.; Yahia, E.
2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5758-5764.

- Castellar, M.; Solano, F.; Obón, J.
2012. Betacyanin and other antioxidants production during growth of *Opuntia stricta* (Haw.) fruits. *Plant Foods Hum Nutr.* 67: 337-343.
- Chhikara, N.; Kushwaha, K.; Sharma, P.; Gat, Y.; Panghal, A.
2019. Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry. A critical review. *Food Chemistry* 272: 192-200.
- Clifford, T.; Howatson, G.; Daniel, J.; West, D. J.; Stevenson, E. J.
2015. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7: 2801-2822.
- Escribano, J.; Pedreño, M.; García-Carmona, F.; Muñoz, R.
1998. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis* 9: 124-127.
- Fernández-López, J.; Almela, L.
2001. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A.* 913: 415-420.
- Jain, G.; Gould, K.
2015a. Are betalain pigments the functional homologues of anthocyanins in plants? *Environmental and Experimental Botany* 119: 48-53.
- Jain, G.; Gould, K.
2015b. Functional significance of betalain biosynthesis in leaves of *Disphyma australe* under salinity stress. *Environmental and Experimental Botany* 109: 131-140.
- Kujala, T.; Vienola, M.; Klika, K.
2002. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *Eur Food Technol* 214: 505-510.
- Lee, Y.; Wiley, C.
1981. Betalaine yield from a continuous solid-liquid extraction system as influenced by raw product, post-harvest and processing variables. *Journal of Food Science* 46: 422-424.
- Mulry, K.; Hanson, B.; Dudle, D.
2015. Alternative strategies in response to saline stress in two varieties of *Portulaca oleracea* (Purslane). Two Varieties of *Portulaca oleracea* (Purslane). PLoS ONE 10(9): e0138723. doi: 10.1371/journal.pone.0138723.
- Niveyro, S.L.; Mortensen, A.G.; Fomsgaard, I.S.; Salvo, A.
2013. Differences among five amaranth varieties (*Amaranthus* spp.) regarding secondary metabolites and foliar herbivory by chewing insects in the field. *Arthropod-Plant Interactions* 7: 235-245.
- Stagnari, F.; Galieni, A.; Specca, S.; Pisante, M.
2014. Water stress effects on growth, yield and quality traits of red beet. *Scientia Horticulturae* 165: 13-22.
- Szopinska, A.; Gaweda, M.
2013. Comparison of yield and quality of red beet roots cultivated using conventional, integrated and organic method. *Journal of Horticultural Research* 21 (1): 107-114.
- Tyszcza-Czochara, M.; Pasko, P.; Zagrodzki, P.; Gajdzik, E.; Wietecha-Poslusznny, R.; Gorinstein, S.
2016. Selenium supplementation of amaranth sprouts influences betacyanin content and improves anti-inflammatory properties via NFκB in murine RAW 264.7 macrophages. *Biological Trace Element Research*, 169: 320-330.
- Valencia, Z.; Cámara, F.; Ccapa, K.; Catacora, P.; Quispe, F.
2017. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de semillas de quinua peruana (*Chenopodium quinoa* W.). *Revista Sociedad Química de Perú* 83 (1): 16-29.
- Wang, C.; Zhao, J.; Chen, M.; Wang, B.
2006. Identification of betacyanin and effects of environmental factors on its accumulation in halophyte *Suaeda salsa* L. *J. Plant. Physiol. Mol. Biol.*, 32: 195-201.

