



## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la relación de las betacianinas (Bc) con la reducción del daño causado por la toxina fúngica cercosporina en las hojas de *Beta vulgaris* L. Las hojas se clasificaron de acuerdo a su edad como h1-h5, siendo la h1 la de menor edad. En cada una de las hojas, la toxina (100  $\mu$ M) se infiltró en la mitad de la hoja y la otra mitad con agua (control). En las h1, después de 24 h de infiltración se encontró que el contenido inicial de ERO (16.0  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/disco) aumentó con el tiempo de infiltración. El contenido fue mayor en las áreas de h1 infiltradas con la toxina (114.5  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> /disco) que en el tejido tratado con agua (84.9  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> /disco). Estos contenidos de ERO se relacionaron con una disminución del contenido de clorofilas y del peso fresco. La formación de un halo rojo rodeando al tejido seco indicó la presencia de Bc que a las 24 h fue de 50.5  $\mu$ g Bc/disco. El aumento del contenido de ERO, la disminución de los niveles de clorofilas y la pérdida de peso fueron mayores en las hojas de mayor edad que en las más jóvenes. Para obtener plantas con Bc, se probó si la infiltración de las hojas con fosfatos induce la síntesis de Bc en las hojas de plantas sin Bc. Los resultados mostraron que la infiltración de las hojas con una solución de fosfatos de sodio (FS) 100 mM induce la acumulación de Bc en las h1 a la h4, pero no en las de mayor edad (h5). Esta inducción de la síntesis de Bc aumentó con el tiempo de infiltración con la solución de FS. A las 72 h, en las hojas 1 a la 4 se evaluaron contenidos de Bc de 146, 121, 68 y 14  $\mu$ g de Bc/disco, respectivamente. Para conocer el efecto de la toxina en las hojas con Bc, después de las 72 h de inducción con FS, se realizó una segunda infiltración con la toxina y nuevamente se cuantificó el contenido de Bc. Los resultados mostraron que se redujo el contenido de las Bc en las áreas infiltradas con la toxina, la reducción en el contenido de Bc se relacionó con un aumento en el nivel inicial de ERO.

Por otra parte, de las hojas inducidas con FS se obtuvo un extracto de Bc y se realizó un ensayo *in vitro* mezclando el extracto de Bc con cercosporina. El perfil de absorbancia de la mezcla de Bc con cercosporina, mostró cambios en los espectros de absorbancia de los dos compuestos. Dichos cambios se relacionaron con una paulatina disminución del contenido de Bc en el ensayo. Lo anterior permite sugerir que Bc actúan como agentes reductores de la toxina. Todos los resultados permiten concluir que las Bc por su capacidad antioxidante participan en la reducción del daño por oxidación causado por la toxina fúngica cercosporina.



## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the relation of betacyanins (Bc) with the damage reduction caused by the cercosporina fungal toxin in the *Beta vulgaris* L leaves. The leaves were classified according to their age as h1-h5, being h1 the youngest. Each leaf half was infiltrated with the toxin (100  $\mu\text{M}$ ) and the other middle was infiltrated with water (control). After 24 h post-infiltration, the ROS initial content (16.0  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2/\text{disco}$ ) of h1 leaves was increased with infiltration time. This content was greater in the h1 infiltrated with the toxin (114.5  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2/\text{disco}$ ) than that treated with water (84.9  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2/\text{disco}$ ). ROS contents were related to a diminution of chlorophyll content and fresh weight. The formation of one red halo surrounding to the dry tissue indicated the Bc presence. After 24 h post-infiltration the betacyanin content was 50.5  $\mu\text{g}$  Bc/disco. The increase of ROS content, diminution of chlorophyll levels and the weight loss were higher in oldest leaves than in youngest leaves. In order to obtain plants with Bc, it was evaluated if infiltration with phosphates induce Bc in plant leaves without Bc. Results showed that infiltration with sodium phosphate solution (SP) 100 mM caused the Bc induction in leaves 1 to 4, but not in h5. This Bc synthesis induction increased with the infiltration time of SP solution. After 72 h of infiltration, Bc contents were 146, 121, 68 and 14  $\mu\text{g}$  of Bc/disco in the h1 to h4, respectively. To know the effect of the toxin in leaves with Bc, after 72 h of Bc induction with SP, one second infiltration with the toxin was realized and the Bc content was quantified other again. The results showed that the Bc content was reduced on infiltrated areas with the toxin. The reduction of Bc content was related to an increase of ROS initial level.

On the other hand, Bc extract was obtained of induced leaves by SP infiltration. It was made an *in vitro* assay, mixing Bc with cercosporin. Absorbance profiles of the mixture of Bc with cercosporina showed that both compound changed its absorbance spectra. These changes were related with a gradual diminution of Bc content in the test, suggesting that Bc act like to reducing agents of the toxin. Results indicate that Bc by their antioxidant capacity participate in the reduction of the damage by oxidation caused by the cercosporina fungal toxin.