

Contenido de fenoles totales en la testa de las semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.

Yenisey Gutierrez Sánchez^{1,2}, Mileidy Cruz-Martín¹, Cynthia Sánchez-García, Michel Leiva-Mora¹, Mayra Acosta-Suárez¹, Berkis Roque¹, Roldán Torres³, Yelenys Alvarado-Capó¹

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830. e-mail: yelenys@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830.

³Centro de Biotecnología, Universidad Nacional de Loja. Av Pío Jaramillo Alvarado S/N Casilla Letra S. La Argelia. Loja. Ecuador. CP 110150.

RESUMEN

Los colores de la testa de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se han relacionado con algunas de sus propiedades. El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de fenoles totales en la testa de semillas de tres cultivares de frijol de colores diferentes. Se emplearon semillas de los cultivares 'Delicias 364' (testa de color rojo), 'BAT-482' (testa de color blanco) y 'BAT-304' (testa de color negro). En base a una curva estándar de ácido gálico se calculó la concentración de fenoles totales de las muestras. Se encontraron diferencias significativas entre los extractos de la testa de los tres cultivares, con los menores valores para el cultivar 'BAT-482' de testa blanca y una relación superior a 1:20 con respecto a los otros dos ensayados. El contenido de fenoles totales en la testa de los cultivares de frijol común 'Delicias 364', 'BAT-482' y 'BAT-304' se relacionó con su color.

Palabras clave: frijol común, metabolitos secundarios, simbiosis

Total phenol content in seed coat of three cultivars of *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

The colors of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) are related to some of their properties. The objective of this work was to determine the total phenol content in the seed coat of three different bean cultivars. Seeds of the cultivars 'Delicias 364' (red coat), 'BAT-482' (white coat) and 'BAT-304' (black coat) were used. Based on a standard curve of gallic acid the total phenol concentration of the samples was calculated. Significant differences were found among the coat extracts of the three cultivars, with the lowest values for 'BAT-482' cultivar with white coat and a ratio greater than 1:20 with respect to the other two assayed. The content of total phenols in the seed coat of common bean cultivars 'Delicias 364', 'BAT-482' and 'BAT-304' was related to their color.

Keywords: common bean, secondary metabolites, symbioses

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios muy abundantes en la naturaleza y la mayoría tienen origen vegetal. Algunos son constituyentes de las células vegetales y otros se inducen y liberan como respuesta a factores bióticos y abióticos. Tienen una variedad de propiedades fisiológicas (Balasundaram *et al.*, 2006).

Se ha descrito que actúan como moléculas de señalización en la iniciación de la simbiosis

Rhizobium-leguminosas, en el establecimiento de simbiosis de micorrizas arbusculares y pueden actuar como agentes en la defensa de las plantas contra patógenos (Hungria *et al.*, 1992; Bolaños-Vásquez y Werner, 1997; Shaw *et al.*, 2006; Mandal *et al.*, 2010). Algunos, como los flavonoides, se conoce que juegan un papel multifuncional en las interacciones planta-microorganismos y en la comunicación planta-planta. En el caso de las leguminosas son las señales clave en la iniciación de la formación de nódulos en la fijación simbiótica de nitrógeno donde actúan como agentes inductores (Shaw *et al.*, 2006).

Por otra parte, Beninger y Hosfield (2003) informaron que compuestos fenólicos de semillas de frijol común con diferentes colores de la testa mostraron una actividad antioxidante elevada. La testa del frijol común tiene diversos componentes dentro de los cuales se incluyen fibra y varios compuestos fenólicos que exhiben actividad antioxidante y que desempeñan una función protectora ante el daño oxidativo causado por agentes externos. Según Díaz *et al.* (2010) y Calatayud (2010) los colores de la testa se relacionan con su contenido de determinados compuestos fenólicos (taninos, flavonoides, flavonoles, antocianinas, entre otros).

Las antocianinas se caracterizan por su solubilidad en agua y por sus colores brillantes. Se encuentran en los frijoles con testa de color rojo, rosa y negro y contribuyen a sus diferentes coloraciones (Salinas-Moreno *et al.*, 2005).

Conocer la composición química de la testa de semillas de frijol común, especialmente el contenido de fenoles, podría contribuir al desarrollo de estudios para profundizar en la interacción planta-microorganismo a nivel de la rizosfera.

Atendiendo a lo anterior este trabajo se propuso como objetivo determinar el contenido de fenoles totales en la testa de semillas de tres cultivares de frijol común de colores diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon semillas de los cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. 'Delicias 364' (testa de color rojo), 'BAT-482' (testa de color blanco) y 'BAT-304' (testa de color negro) (Figura 1) procedentes del Banco de semillas del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas.

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó según procedimiento descrito por Bray y Thorpe (1954). Se pesó 1g de testa de las semillas para cada cultivar y se extrajo en 10 ml de etanol al 80% (v/v) durante 72 horas a 4 °C. Pasado este tiempo las muestras se calentaron a 50 °C, por 30 min. El extracto se centrifugó a 8 000 g por 10 min. Se tomó una alícuota de 1 ml del sobrenadante y se enrasó hasta 3 ml con agua destilada, se agregó 1 ml del reactivo de Folin Ciocalteau (Merck) y 2 ml de carbonato de sodio al 20% (m/v). Las muestras se calentaron durante 1 min en baño de agua hirviendo y posteriormente se enfriaron en agua corriente. La solución se diluyó hasta 10 ml con agua destilada y la densidad del color azul se midió a 750 nm en espectrofotómetro (Genesys 6, Thermo Electron Corporation, USA) contra el blanco (1ml de etanol al 80% en lugar del extracto y se siguió todo el procedimiento descrito anteriormente).



Figura 1. Semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. empleadas en el estudio. Arriba izquierda: 'Delicias-364', arriba a la derecha: 'BAT-304', abajo: 'BAT-482'.

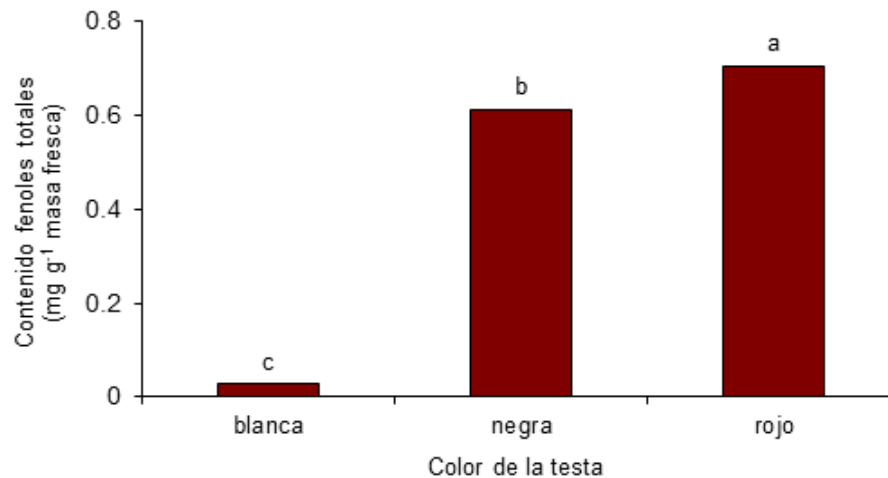


Figura 2. Contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de la testa de semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. de colores diferentes. Testa blanca: 'BAT-482', testa negra: 'BAT-304', testa roja: 'Delicias-364'. Barras con letras diferentes indican diferencias entre los rangos medios según las pruebas de Kruskal Wallis/Mann Whitney ($p \leq 0.05$).

La cuantificación se basó en una curva estándar de ácido gálico a partir del cual se calculó la concentración de fenoles totales de la muestra. El contenido de fenoles se expresó como mg de ácido gálico equivalente por g de masa fresca (mg AGE g⁻¹).

Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante las pruebas de Kruskal Wallis/Mann Whitney, previa comprobación del no cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron diferencias significativas para el contenido de fenoles totales entre los extractos de la testa de los tres cultivares, con los menores valores para 'BAT-482' de testa blanca (Figura 2).

El contenido de fenoles totales en base a ácido gálico varió desde 0.029 ('BAT-482') hasta 0.7 ('Delicias -364') mg g⁻¹ de masa fresca de la testa.

Se comprobó que la relación entre el contenido de fenoles totales del cultivar de testa blanca con los otros dos ensayados fue superior a 1:20. Estos resultados concuerdan con los referidos por Oroian y Escriche (2015) quienes informaron que los fenoles están esencialmente presentes en la testa de las semillas de frijol y en menor cantidad en los cotiledones. Además,

que los cultivares pigmentados tienen mayor contenido de fenoles totales que los no pigmentados. Se conoce que estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y tienen diversas funciones en la planta. En las leguminosas, se han encontrado varios compuestos fenólicos a los cuales se les atribuyen diferentes funciones. Por ejemplo, se ha informado que los ácidos fenólicos son liberados rápidamente en las raíces emergentes durante la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas (Staman *et al.*, 2001). Además, se ha relacionado con la respuesta a estímulos externos. En este sentido, Malusà *et al.* (2006) encontraron que diez días después de privar a las plantas de fósforo, los exudados de las raíces tenían mayor concentración de compuestos fenólicos que los de aquellas plantas que se les había suministrado. Al cabo de 28 días la concentración había subido a 100 veces más que en las plantas controles.

En el caso de las semillas, la presencia de compuestos fenólicos se ha vinculado con determinados procesos fisiológicos que incluyen respuestas defensivas u otros procesos importantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por ejemplo, Debeaujon *et al.* (2001) informaron que en *Arabidopsis* los compuestos fenólicos presentes en la testa de las semillas interferían con la fisiología de la dormancia y germinación. En igual sentido, Mandal *et al.* (2010) refirieron que los rizobios tienen la capacidad de utilizar

los ácidos fenólicos como fuente de carbono y que algunos de estos compuestos promueven el crecimiento de las bacterias en la rizosfera. Sin embargo, la relación entre el contenido y composición de fenoles en la testa de las semillas de frijol y su efecto sobre microorganismos asociados al cultivo no es un tema tratado exhaustivamente en la literatura científica. Los resultados de este trabajo podrían contribuir al desarrollo de investigaciones al respecto.

CONCLUSIONES

El contenido de fenoles totales en la testa de los cultivares de frijol común 'Delicias 364', 'BAT-482' y 'BAT-304' se relaciona con su color, siendo más abundantes en las semillas con testa negra y roja.

REFERENCIAS

- Balasundrama Nagendran, Kalyana Sundramb, Samir Sammana (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99 (1): 191–203; doi: 10.1010.1016/j.foodchem.2005.07.042
- Beninger Clifford W, Hosfield George L (2003) Antioxidant Activity of Extracts, Condensed Tannin Fractions, and Pure Flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed Coat Color Genotypes. *J Agric Food Chem* 51 (27): 7879–7883; doi: 10.1021/jf0304324
- Bolaños-Vásquez M C, Werner D (1997) Effects of *Rhizobium tropici*, *R. etli*, and *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* on nod gene-inducing flavonoids in root exudates of *Phaseolus vulgaris*. *Mol Plant-Microbe Interact* 10 (3): 339–346
- Bray W, Thorpe V (1954) Analysis of phenolic compounds of interest in metabolism. *Meth Biochem Analysis* 1:27-52
- Debeaujon I, Anton J, Peeters M, León M, Koornneef M (2001) The transparent testa Gene of *Arabidopsis* Encodes Multidrug Secondary Transporter-like Protein Required for Flavonoid Sequestration in Vacuoles of the Seed Coat Endothelium. *The Plant Cell* 13 (4): 853–871
- Díaz AM, Caldas GV, Blair M (2010) Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. *Food Research International* 43 (2): 595–601; doi: 10.1016/j.foodres.2009.07.014
- Hungria M, Johnston A W B, Phillips D A (1992) Effects of flavonoids released naturally from bean (*Phaseolus vulgaris*) on nodD-regulated gene transcription in *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. *Mol Plant-Microbe Interact* 5 (3): 199–203
- Liz J Shaw, Phil Morris, John E Hooker (2006) Perception and modification of plant flavonoid signals by rhizosphere microorganisms. *Environmental Microbiology* 8(11): 1867–1880; doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01141.x
- Malusà E, Russo MA, Mozzetti C, Belligno A (2006) Modification of secondary metabolism and flavonoid biosynthesis under phosphate deficiency in bean roots. *Journal of Plant Nutrition* 29 (2): 245–258; doi: 10.1080/01904160500474090
- Mandal S, Chakraborty D, Dey S (2010) Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior* 5 (4): 359-368
- Oroian M, Escriche I (2015) Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74:10–36. doi: 10.1016/j.foodres.2015.04.018
- Salinas-Moreno Y, Rojas-Herrera L, Sosa-Montes E, Pérez-Herrera P (2005) Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia* 39 (4): 385-394
- Staman K, Blum U, Louws F, Robertson D (2001) Can simultaneous inhibition of seedling growth and stimulation of rhizosphere bacterial populations provide evidence for phytotoxin transfer from plant residues in the bulk soil to the rhizosphere of sensitive species? *J Chem Ecol* 27 (4):807-29
- Winkel-Shirley B (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr Opin Plant Biol* 5 (3): 218-223

Recibido: 10-10-2015

Aceptado: 14-01-2016