



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**BIOFORTIFICACIÓN DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CON
HIERRO**

TESIS

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

PRESENTA

Jean Wildort Félix

DIRECTOR

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro

Co-Director

Dr. Esteban Sánchez-Chávez

Villahermosa, Tabasco Marzo de 2020



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS**



ASUNTO: El que se indica.

OFICIO: DACA-124

Villahermosa, Tabasco, a 17 de marzo de 2020

**C. JEAN WILDORT FÉLIX
EGRESADO DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
PRESENTE**

Por este conducto y de acuerdo a su solicitud de autorización de impresión, informo a usted que sobre la base del Artículo 26 del reglamento de Posgrado de esta Universidad, esta Dirección a mi cargo, le **autoriza la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de tesis titulada "**Biofortificación del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con hierro .**"

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un saludo cordial.

ATENTAMENTE

**PhD. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA
DIRECTOR**

U.J.A.T.



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN**

C.c.p.- Archivo.

Miembro CUMEX desde 2008

**Consortio de
Universidades
Mexicanas**
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km 25, Carret. Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 358-15-85 y 142-9150

Correos electrónicos: direccion.daca@ujat.mx, daca.direccion@gmail.com

www.ujat.mx

www.facebook.com/ujat.mx | www.twitter.com/ujat | www.youtube.com/UJATmx

CARTA DE AUTORIZACION

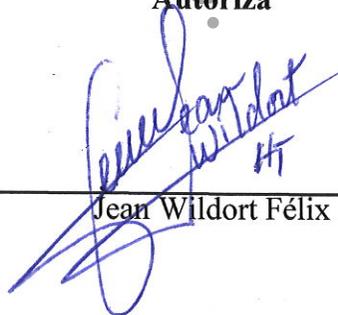
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada “**BIOFORTIFICACIÓN DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CON HIERRO**”, de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucros; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitada para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad, tenga relación institucional.

Por lo anterior, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 20 días del mes Marzo del año 2020.

Autoriza



Jean Wildort Félix

DEDICATORIA

Le doy gracias al gran arquitecto del universo por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo la felicidad.

A mis padres fallecidos, Sr. y Sra. Emmanuel FELIX por siempre apoyarme, por los valores que me inculcaron y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanas **FÉLIX**: Juliette, Ginelle, Emmania, Dieulène, Rose-Carmène, Modeline, Adeline y Jenny-Flore por ser parte importante de mi vida, representar la unidad familiar, y también por apoyarme en aquellos momentos de necesidades. Ustedes son los principales promotores de mis sueños. No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco y hago presente mi gran afecto hacia ustedes, mi hermosa familia.

A Félix Benjy (BF7), Jules Sankara Yves Rainer Lendell y Jean Derly Désir, gracias por su amor incondicional. Gracias por confiar y creer en mí y en mis expectativas.

A mis sobrinos: NICOLEAU Keydjina y Keydjino, MORIN Emmanuel Wildo y Sandless, DENAUD Sam Pradesh, Oliver y Smeef Lea, LAGUERRE Sebastian Marc y Asher

A Perla, no tengo palabras para expresar mis agradecimientos. Estuviste siempre por mí, en los buenos y los malos momentos, en los momentos de alegría y de pena. Gracias por todo.

A Laguerre Yves Marc y Morin Wisly, gracias por todo el apoyo.

Esta tesis está dedicada a la familia FELIX y a Perla Alejandra Ruiz Abreu

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) por haberme aceptado y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante 2 años, así mismo por el apoyo para la realización de una estancia académica durante los estudios de Maestría.

Al Proyecto de Investigación “Biofortificación de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Verdín con hierro” con folio 549.

Al Dr. Efraín de la Cruz-Lázaro que desde el inicio me ha guiado, usted ha sido mi mano derecha en el complicado proceso. Sin duda no era nada fácil, sin embargo gracias a su ayuda, esto ha parecido menos complicado. Gracias por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico así como haberme tenido toda la paciencia del mundo.

Al Dr. Esteban Sánchez-Chávez, le agradezco por todo el apoyo brindado, por su tiempo y por los conocimientos que me transmitió.

A cada uno de los miembros del comité revisor Dr. Sánchez-Hernández Rufo, Dr. Osorio Osorio Rodolfo, Dr. Estrada Botella Maximiliano Antonio, Dr. Huijara Vasconcelos José Javier, gracias por sus acertados comentarios y correcciones que contribuyen a enriquecer el trabajo.

Al MC. Arturo Enrique Priego Ramírez y Dr. Eusebio Martínez (†), por los consejos y su humildad.

A M. C. Florvil Felson, por haber sido excelente compañero y amigo desde la licenciatura hasta la maestría. Gracias por motivarme a seguir adelante en los momentos difíciles.

A Perla Abreu, Leticia Montiel, Mariela Ribón, Stephany Abreu.

A Dr. Ronel Dumorné, Norman Dalembert, Jeff Merazil, M.C. Henry Claude Nelson, I.Q. Wanexe Poisson.

A Samuel Lara, Donatien Jean-Jacques, Elson Saino, Campuzano Bryam, Enrique Flores.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1. Importancia del frijol	2
2.2. Origen del frijol	2
2.3. Morfología del frijol	3
2.4. Propiedades alimenticias del frijol	3
2.4.1. Contenido mineral del grano de frijol	3
2.4.2. Contenido de proteínas y vitaminas	4
2.4.3. Contenido de carbohidratos y de fibras	5
2.4.4. Contenido antinutricional del frijol	5
2.5. El hierro	6
2.5.1. El hierro en el suelo	6
2.5.2. El hierro en las plantas	7
2.6. Los quelatos y sulfatos	8
2.7. Biofortificación	8
III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	10
3.1. Objetivo general	10
3.2. Objetivos particulares	10
3.3. Hipótesis	10
IV. LITERATURA CITADA	11
CAPITULO I	19
Edaphic and foliar biofortification of beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) with iron	19
CAPITULO II	34
Biofortificación agronómica de granos de frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con hierro	34
Agronomic biofortification of common bean grain (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) with iron	34
V. CONCLUSIONES GENERALES	56
VI. ANEXOS	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido de minerales en el grano de frijol	4
---	---

CAPÍTULO I

Table 1. Mineral content of biofortified Creole bean grains with iron	24
--	----

Table 2. Proximal composition of biofortified Creole bean grains with iron	26
---	----

Table 3. Bioactive compound content and antioxidant activity of biofortified Creole bean grains with iron	29
--	----

CAPÍTULO II

Cuadro 1. Contenido mineral de granos de frijol variedad Verdín biofortificados con hierro	43
---	----

Cuadro 2. Composición proximal de los granos de frijol variedad Verdín biofortificados con hierro	47
--	----

Cuadro 3. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de frijol biofortificados con hierro	50
---	----

RESUMEN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) forma parte de la dieta de las personas, debido a que es una fuente importante de carbohidratos, proteínas, fibras, vitaminas y minerales. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la biofortificación edáfica y foliar sobre el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de frijol de las variedades criolla y verdín. La biofortificación edáfica se realizó con sulfato de hierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), en dosis de 0 (testigo), 0.25 y 0.50 g aplicados al suelo a 5 cm del tallo de la planta a los 16, 45 y 55 días después de la siembra (dds); mientras que de forma foliar se aplicó quelato de hierro (EDDHA 6%) a dosis de 0 (testigo), 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ por aspersión al follaje a partir de la floración (34 dds), para continuar con aplicaciones a los 44, 54 y 64 dds. La combinación de las aplicaciones edáficas y foliares generó 12 tratamientos. En los granos se determinó el contenido mineral por espectrofotometría; la composición proximal por técnicas de la AOAC; además el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante. En la variedad criolla, la biofortificación edáfica y foliar tuvo efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y actividad antioxidante. El testigo tuvo el menor contenido de hierro y el mayor contenido de zinc, lo que se puede deber al antagonismo de estos minerales. Las dos combinaciones con el mayor contenido de hierro (0.25 g edáfico - 100 μM y 0 g edáfico - 50 μM foliar) incrementaron el contenido de hierro con respecto al testigo en un 38 y 41%. Para el verdín, la biofortificación edáfica y foliar incrementó el contenido de hierro, níquel, cenizas, proteína y fibra en el grano, mientras que el zinc y la grasa disminuyeron. Todas las combinaciones con hierro edáfico o foliar incrementaron el contenido de cenizas, proteínas, fibra cruda, fenoles totales y antocianinas; mientras que los carbohidratos y la energía disminuyeron en

el verdín. La combinación 0.50 g edáfico - 100 μ M foliar tuvo la mayor concentración de hierro, níquel, cenizas y fibra; mientras que la actividad antioxidante fue estadísticamente similar en todas las combinaciones. Los mayores contenidos de hierro en el grano fueron superiores entre un 47 y 75%, valores que son superiores al 29% reportado para frijol biofortificado.

Palabras clave: Verdín, criollo, compuestos bioactivos, composición proximal, actividad antioxidante

ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is part of the daily diet of people, because it is an important source of carbohydrates, proteins, fibers, vitamins and minerals. The aim of this investigation was to determine the effect of edaphic and foliar biofortification on the mineral content, proximal composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of grains of creole and verdín bean varieties. The edaphic biofortification was carried out with iron sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), in doses of 0 (control), 0.25 and 0.50 g applied to 5 cm of the plant stem at 16, 45 and 55 days after sowing (das) ; while, in a foliar form, iron chelate (EDDHA 6%) was applied at doses of 0 (control), 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ by sprinkling the foliage after flowering (34 das), to continue with applications at 44, 54 and 64 das. The combination of edaphic and foliar applications generated 12 treatments. In the grains the mineral content was determined by quantification by spectrophotometry; proximal composition by AOAC techniques; also the content of bioactive compounds and antioxidant activity. In the creole variety, edaphic and foliar biofortification had an effect on mineral content, proximal composition, bioactive compounds, and antioxidant activity. The control had the lowest iron content and the highest zinc content, which may be due to the antagonism between iron and zinc. The two combinations with the highest iron content (0.25 g edaphic - 100 μM ; 0 g edaphic - 50 μM foliar) increased the content with respect to the control by 38 and 41%. For the verdín variety, edaphic and foliar biofortification increased the iron, nickel, ash, protein and fiber content in the grain, while zinc and fat decreased. All the combinations with some edaphic or foliar dose of iron increased the content of ash, protein, crude fiber, total phenols and anthocyanins; while the carbohydrate and energy content decreased. The combinations 0.50 g - 100 μM had the highest concentrations of iron, nickel, ash and fiber. While the

antioxidant activity was statistically similar for all doses. The highest iron content in the grain was between 47 and 75%, values that are greater than 29% reported for biofortified beans.

Key words: Verdín, Creole, bioactive compounds, proximal composition, antioxidant activity

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

I. INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son importantes dentro de los cultivos alimentarios del mundo (Bellucci *et al.*, 2014). El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las cinco especies más cultivadas del género *Phaseolus* y una de las leguminosas de mayor consumo, en América Latina, África y Sur de Europa, sembrándose desde los 2,300 metros de altitud (Ulloa *et al.*, 2011). Del frijol se consumen sus vainas verdes y sus granos frescos o secos, y la planta seca se usa como forraje (Izquierdo *et al.*, 2018).

En México el frijol es la leguminosa de mayor consumo, con una producción de 2,015,707 toneladas en una superficie de 245,933 ha (SIAP, 2018). Su importancia también se refleja en un consumo *per cápita* anual de 18 kg, lo que representan el 36% de la ingesta diaria de proteínas en las comunidades rurales (Lara-Flores, 2015). Por lo que representando una fuente esencial de proteínas, carbohidratos, vitaminas, fibras, metabolitos secundarios; además de minerales como el hierro y zinc, esenciales para la salud (Espinoza-García *et al.*, 2016). Pero por las condiciones nutritivas de los suelos donde se produce y las características genéticas de las variedades cultivadas, el contenido de hierro y zinc en el grano es bajo; por lo que una de las alternativas planteadas para incrementar el contenido micronutrientes en las parts comestibles de las plantas cultivadas es la biofortificación (Bouis y Saltzman, 2017). Motivo por el cual el frijol ha tomado importancia en estudios de biofortificación, debido a que es la leguminosa de mayor consumo directo en el mundo, además de fuente de minerales y proteínas (Blair y Astudillo, 2009). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la aplicación edáfica y foliar del sulfato y quelato de hierro bajo condiciones de campo sobre el contenido mineral, la composición proximal, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de dos variedades de frijol *P. vulgaris* criollo y verdín.

II. ANTECEDENTES

2.1. Importancia del frijol

Dentro de las leguminosas comestibles, el frijol común (*P. vulgaris*) es una de las más importantes, debido a su amplia distribución en los cinco continentes, además de que es un complemento nutricional indispensable en la dieta de millones de personas (Debouck y Hidalgo, 1985). Se cultiva en las zonas tropicales y templadas del mundo (Lépiz *et al.*, 2010), sembrándose las mayores superficies en América Latina y África Subsahariana, donde se producen tres cuartas partes de la producción mundial (Bellucci *et al.*, 2014).

El frijol, también es una fuente importante de nutrientes para más de 300 millones de personas, a quienes aporta el 65% de las proteínas, 32% de energía, y minerales como el calcio, hierro, fósforo, magnesio, hierro, y zinc, además de ácido fólico (Lara-Flores, 2015; Sperotto y Ricachenevsky 2017). Con respecto al volumen de producción, México ocupa el quinto lugar en la producción mundial con 1,273,957 t, y en América el tercer productor, solo superado por volumen de producción por de Brasil (3,294,586 t) y Estados Unidos de América (1,324,766 t) (Espinoza-García *et al.*, 2016).

2.2. Origen del frijol

El frijol tuvo su origen en el periodo de 7,000 a 8,000 años a. C., transitando de su forma silvestre de hábito trepador y semillas pequeñas, a la forma actual que se siembra en un amplio rango de ambientes (Lépiz *et al.*, 2010). Se tienen dos grandes acervas genéticas, el andino y el mesoamericano, con centros de origen en América del Sur y Central (Omae *et al.*, 2012). De acuerdo a la distribución geográfica, la mayoría de las especies del género *Phaseolus* son de origen mesoamericano (Rendón-Anaya *et al.*, 2017). La planta del frijol es

herbácea de tipo anual, se cultiva desde los trópicos hasta las zonas templadas, siendo México el centro de origen y domesticación de varios tipos de frijol (Gálvez y Salinas, 2015).

2.3. Morfología y fenología del frijol

El frijol tiene cotiledones epigeos, foliolos codiformes, y vainas de tamaño mediano con entre 10 y 20 granos (Meza-Vázquez *et al.*, 2015). El ciclo biológico se ha dividido en dos fases principales sucesivas: fase vegetativa y fase reproductiva, la fase vegetativa inicia con la germinación de la semilla y termina con la aparición de los primeros botones florales, se divide en cinco etapas: germinación (V0), emergencia (V1), hojas primarias (V2), primera hoja trifoliada (V3) y tercera hoja trifoliada (V4). La fase reproductiva inicia con la aparición de los botones florales, hasta la madurez fisiológica de la semilla y consta de cinco etapas: prefloración (R5), floración (R6), formación de vainas (R7), llenado de vainas (R8) y madurez fisiológica (R9) (Fernández *et al.*, 1991). Uno de los factores que modifican el vigor de la semilla es la plasticidad fenotípica (Celis-Velázquez *et al.*, 2010).

2.4. Propiedades alimenticias del frijol

2.4.1. Contenido mineral del grano de frijol

El frijol contiene minerales, proteína, carbohidratos y compuestos bioactivos. El contenido mineral del frijol se presenta en el Cuadro 1. En lo que respecta al hierro se ha encontrado que su contenido oscila entre 34 y 84.6 ppm, lo que indica la gran variabilidad que hay en las diferentes variedades de frijol en el contenido de este mineral (Blair, 2013).

Cuadro 1. Contenido de minerales en el grano de frijol (Espinoza-García *et al.*, 2016; Blair, 2013; Pinheiro *et al.*, 2010; Gouveia *et al.*, 2014; Rasooli *et al.*, 2019).

Contenido mineral	Mínimo	Máximo
P (%)	0.01	0.62
K (%)	0.33	2.07
Mg (%)	0.15	0.25
Ca (%)	0.07	1.39
Fe (ppm)	34.00	84.60
Zn (ppm)	1.40	45.30
Cu (ppm)	1.14	12.40
Mn (ppm)	1.17	38.54
N (%)	3.4	4.2

2.4.2. Contenido de proteínas y vitaminas

El frijol es una de las principales fuentes de proteína (García, 2009), su contenido varía entre 14 y 33%. Al respecto Kutman *et al.* (2011) reportaron que el hierro es un componente principal de las proteínas, mientras que Blancquaert *et al.* (2017) reportaron correlaciones positivas entre el contenido de proteína y la concentración de hierro. Al aumentar la concentración de proteína en el grano, también se incrementa la capacidad de almacenamiento de hierro (Cakmak *et al.*, 2010). Sobre lo mismo, Gomez-Becerra *et al.* (2010) reporta que la capacidad de acumular hierro depende de la cantidad de proteína del grano. De las proteínas que contiene el grano del frijol, las albúminas representan entre el 14.8 y 20.8%, las globulinas del 33 al 45%, las glutelinas del 12.8 al 41.2% y las prolaminas menos del 1% (Raya-Pérez *et al.*, 2014). También contiene vitaminas como el ácido fólico, tiamina, y minerales (Morales-Morales *et al.*, 2016).

2.4.3. Contenido de carbohidratos y de fibras

Las leguminosas además de proveer carbohidratos complejos como el almidón (50 a 65%), fibra dietética (10 a 20%), y lípidos (0.8 a 2%) (Miquilena e Higuera, 2012). En 100 g de frijol, se encuentran entre 52 y 76 gramos de carbohidratos, de los cuales el almidón es la parte más importante (Ulloa *et al.*, 2011). En lo referente, al contenido de fibras, sobresale la fibra dietética, que está formada por polisacáridos indigeribles (García, 2009). En el frijol el contenido de fibras solubles oscila entre 0.3 y 1.6%, mientras que el contenido de fibras no solubles oscila entre 25.2 y 36.1% (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017).

2.4.4. Contenido antinutricional del frijol

Los compuestos que reducen la utilización de nutrientes y que impiden la actividad biológica de diversos compuestos químicos, se llaman factores antinutricionales (García, 2009). Se pueden clasificar como termo estables que son factores antigénicos, oligosacáridos y aminoácidos no proteicos tóxicos y termo lábiles que funcionan como inhibidores de proteasas, lectinas, antivitaminas y entre otros (Elizalde *et al.*, 2009). El uso del frijol como alimento básico primario tiene la limitante de tener factores antinutricionales, que pueden producir efectos adversos para la nutrición humana y animal (Anton *et al.*, 2008). Aunque algunos compuestos como los polifenos son considerados como factores antinutricionales, también tienen efectos positivos sobre la salud humana como propiedades anticancerígenas y antioxidantes (Gamez *et al.*, 1998). Mientras que el ácido fítico disminuye la asimilación de las proteínas y limita la digestibilidad de los minerales (Ulloa *et al.*, 2011). La fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los alimentos vegetales está constituido por los taninos condensados (Elizalde *et al.*, 2009). La presencia de inhibidores

potentes de la absorción, como el ácido fítico o los compuestos de polifenoles causa la deficiencia del Fe (Hurrell *et al.*, 1999).

2.5. El hierro

El hierro tiene dos estados de oxidación Fe^{++} y Fe^{+++} (Pérez *et al.*, 2005). Participa en la síntesis de hemoglobina, mioglobina, citocromos, enzimas y es esencial para la respiración, la función mitocondrial y producción de energía (Boutchuen *et al.*, 2019). Como componente de los grupos de hierro y azufre, el hierro es esencial para el grupo protésico de enzimas involucradas en la proliferación celular (Camaschella, 2017). Su deficiencia es el trastorno nutricional más común en las personas (Shahzad *et al.*, 2014). Mientras que en las plantas es uno de los nutrientes que más problemas presenta en los cultivos (Juárez *et al.*, 2010).

2.5.1. El hierro en el suelo

El hierro es el cuarto elemento más abundante en los suelos después del silicio (Si), oxígeno (O), y aluminio (Al) (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012); su contenido en el suelo se estima en un 3.8% (Juárez *et al.*, 2010). Es uno de los elementos más frecuentes en las rocas y suelos agrícolas, aunque se encuentra poco biodisponible en el suelo (Acevedo-Sandoval *et al.*, 2004). Tiene dos estados de oxidación conocidos como Fe (II) y Fe (III), debido a su valencia +2 y +3 con la que se combina con otros elementos químicos (Chantes *et al.*, 2012). En el suelo, la mayor parte del hierro se encuentra formando silicatos de ferromagnesio, hidróxidos u óxidos de hierro, formas que no son fácilmente asimilables por las plantas (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012). Los óxidos e hidróxidos de hierro son los responsables del color

rojizo o amarillo de los suelos (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012). Debido a la baja solubilidad de los óxidos de Fe^{3+} , se precipita como óxido o hidróxido (Juárez *et al.*, 2010).

2.5.2. El hierro en las plantas

El hierro (Fe) es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas y de otros organismos. Se requiere para varios procesos celulares, sirve como cofactor para enzimas involucradas en la transferencia de electrones u oxígeno (Kobayashia *et al.*, 2019), juega un papel importante en la biosíntesis de clorofila (Boutchuen *et al.*, 2019), y forma parte esencial del citocromo, el cual actúa como portador de electrones en la fotosíntesis y en la respiración (Moreno-Moyano *et al.*, 2016). Las plantas lo toman del suelo a través de las raíces en forma activa como Fe^{2+} y Fe^{3+} o como quelato (Castellanos *et al.*, 2000). Las plantas enfrentan el problema de la baja disponibilidad de hierro en el suelo a través de dos estrategias. La estrategia I, incrementa la solubilidad del hierro y libera a la rizosfera protones y agentes reductores y quelantes, como ácidos orgánicos y fenoles (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012). La estrategia II, la utilizan las gramíneas, por medio de la cual en condiciones de deficiencia de hierro, la planta libera aminoácidos no proteicos o fitosiderofos (Juárez *et al.*, 2010).

Después de la absorción por las raíces, el hierro se transloca de las raíces a las partes con una alta demanda. La deficiencia de hierro causa clorosis en las plantas (Boutchuen *et al.*, 2019). Esta clorosis es más grave en las hojas más jóvenes que en las hojas más viejas, lo que sugiere que las hojas más jóvenes funcionan como fuentes fuertes y requieren más hierro en comparación con las hojas más viejas (Mori, 1998). En las plantas, hay dos tipos de tejidos vasculares: xilema y floema. El hierro absorbido se transporta a los brotes a través del xilema,

impulsado por la corriente de transpiración y la presión de la raíz, y se descarga del xilema a las hojas más viejas (Kobayashia *et al.*, 2019).

2.6. Los quelatos y sulfatos

Cuando hay deficiencia de hierro, se presenta un amarillamiento en las hojas conocido como clorosis férrica, una de las formas más eficaces de corregir dicha deficiencia es la aplicación del hierro en forma de quelato (Fe-EDDHA, etilendiamino-di-o-hidroxifenilacetato férrico) (Arizmendi-Galicia *et al.*, 2009). Los quelatos están considerado como los fertilizantes más efectivos comparados con las formas inorgánicas, como los sulfatos (Ortega-Blu y Molina-Roco, 2007; Rivera-Ortiz *et al.*, 2009). Un quelato es un compuesto químico en el que una molécula orgánica rodea y se enlaza por varios puntos a un ion metálico, de manera que lo protege de cualquier acción desde el exterior evitando su hidrólisis y precipitación (Perea *et al.*, 2010).

2.7. Biofortificación

La biofortificación es el proceso de aumentar el contenido y/o la biodisponibilidad de nutrientes esenciales en los cultivos durante el crecimiento de las plantas (De Valença *et al.*, 2017). Se puede lograr a través de métodos convencionales de mejoramiento y biotecnología (biofortificación genética), y a través de estrategias agronómicas (Rehman *et al.*, 2018). La biofortificación agronómica, consiste en la aplicación de los minerales de interés por medio de fertilizantes aplicados al suelo o vía foliar (White y Broadley, 2009; Estrada-Domínguez *et al.*, 2018). Las aplicaciones edáficas de hierro no son eficientes, debido a que son afectadas por la rápida y fuerte unión del hierro con las partículas del suelo, lo que impide su absorción

(Fernández *et al.*, 2004). Sobre lo mismo, Cakmak *et al.* (2010), De Valença *et al.* (2017) y Saeid y Jastrzębska (2018) reportaron que el contenido en el grano se incrementa al realizar aplicaciones edáficas y foliares de forma simultánea, pero es más eficiente la aplicación de quelatos vía foliar (Sida-Arreola *et al.*, 2015).

Los programas de biofortificación se enfocan en incrementar el contenido de hierro, zinc, selenio y vitamina A, con el objetivo de complementar y en algunos casos reemplazar la fortificación o suplementación química de minerales (Connorton y Balk, 2019). HarvestPlus reporta que el objetivo de los programas de biofortificación de frijol con hierro debe ser como mínimo de 94 mg kg⁻¹ (Sperotto y Ricachenevsky, 2017).

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. Objetivo general

Determinar el efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de dos variedades de frijol biofortificados con hierro.

3.2. Objetivos particulares

- a) Conocer el efecto de la aplicación edáfica y foliar del sulfato y quelato de hierro sobre contenido mineral, la composición proximal, los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de la variedad de frijol verdín.
- b) Conocer el efecto de la aplicación edáfica y foliar del sulfato y quelato de hierro sobre el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de una variedad criolla de frijol.
- c) Determinar la dosis edáfica y foliar con la que se tiene el mayor contenido de hierro en la variedad verdín y la variedad criolla de frijol.

3.3. Hipótesis

La aplicación foliar y edáfica de diferentes dosis de sulfato y quelato de hierro, incrementará el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de los granos de frijol de las variedades verdín y criolla.

IV. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Sandoval, O., Ortiz-Hernández, E., Cruz-Sánchez, M. y Cruz-Chávez, E. 2004. El papel de óxidos de hierro en suelos. *Terra Latinoamericana* 22(4):485-497.
- Aguado-Santacruz, G.A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, B. y Preciado-Ortiz, R.E. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35(1):9-21.
- Anton, A.A., Ross, K.A., Beta, T., Gary Fulcher, R. and Arntfield, S.D. 2008. Effect of dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT* 41: 771-778. doi:10.1016/j.lwt.2007.05.014.
- Arizmendi-Galicia, N., Rivera-Ortiz, P., De la Cruz-Salazar, F., Castro-Meza, B.I. y Garza-Requena, F. 2009. Lixiviación de hierro quelatado en suelos calcaeros. *Terra Latinoamericana* 29(3):231-237.
- Bellucci, E., Bitocchi, E., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., Giardini, A., Attene, G., Nanni, L. and Papa, R. 2014. Genomics of origin, domestication and evolution of *Phaseolus vulgaris*. In: Tuberosa, R., Graner, A., Frison E. (eds). *Genomics of plant genetic resources*. Springer. Dordrecht. pp: 483-508.
- Blair, M.W. 2013. Mineral biofortification strategies for food staples: The example of common bean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:8287-8294.
- Blair, M.W. and Astudillo, C. 2009. Biofortification breeding of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BioZoom* 2009(1). <http://www.biokemi.org/biozoom/issues/525/articles/2397>. Consultado el 22 de abril de 2018.

- Blancquaert, D., De Steur, H., Gellynck, X. and Van Der, S.D. 2017. Metabolic engineering of micronutrients in crop plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1390: 59–73.
- Bouis, H.E. and Saltzman, A. 2017. Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Global Food Security* 12 (2017):49–58.
- Boutchuen, A., Zimmerman, D., Aich, N., Mohamed, M.A., Arabshahi, A. and Palchoudhury, S. 2019. Increased plant growth with hematite nanoparticle fertilizer drop and determining nanoparticle uptake in plants using multimodal approach. *Journal of Nanomaterials* Article ID 6890572. Doi: 10.1155/2019/6890572.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W.H. and McClafferty, B. 2010. Review: Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry* 87:10–20.
- Camaschella, C. 2017. New insights into iron deficiency and iron deficiency anemia. *Blood Reviews* 31(2017):225-233.
- Castellanos, J.Z., Uvalle-Bueno, J.X. y Aguilar-Santelises, A. 2000. Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. 2a ed. Instituto de Capacitación para la productividad agrícola. Celaya, Guanajuato, México.10p.
- Celis-Velázquez, R., Peña-Valdivia, C.B., Luna-Cavazos, M. y Aguirre, R.J.R. 2010. Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 27:61-87.
- Chantes G.A, Abascal, E.N., Pacheco, S.V., Alonso, M.P.S. y Cruz, C.V. 2012. El hierro, elemento metálico importante en la vida y en los procesos infecciosos. *Elementos* 85:41-48.

- Chávez-Mendoza, C. and Sánchez, E. 2017. Bioactive compounds from mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Implications for health. *Molecules* 22(1360):1-32.
- Connorton, J.M. and Balk, J. 2019. Antioxidant flavonoid glycosides from daphniphyllum calycinum. *Plant Cell Physiology* 60(7): 1447–1456.
- De Valença, A.W., Bake, A., Brouwer, I.D. and Giller, K.E. 2017. Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security* 12(2017):8-14.
- Debouck, D.G. y Hidalgo, R. 1985. Morfología de la planta de frijol común. In: López, M.; Fernández, F.; Schoonhoven, A.V. (eds.). Frijol: investigación y producción. Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo, Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. pp:7-41.
- Elizalde, A.D., Porrilla, Y.P. y Chaparro, D.C.C. 2009. Factores antinutricionales en semillas. *Facultad de Ciencia Agropecuaria* 7(1):45-54.
- Espinoza-García, N., Martínez-Martínez, R., Chávez-Servía, J.L., Vera-Guzmán, A.M., Carrillo-Rodríguez, J.C., Heredia-García, E. y Velasco-Velasco, V.A. 2016. Contenido de minerales en semilla de poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 39(3): 215-223.
- Estrada-Domínguez, V., Márquez-Quiroz, C., De la Cruz-Lázaro, E., Osorio-Osorio, R. y Sánchez-Chávez, E. 2018. Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con zinc: efecto en el rendimiento y contenido mineral. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Número Especial* 20: 4149-4160.

- Fernández, F., Gepts, P. y López, M. 1991. Etapas de desarrollo en la planta de frijol. In: Frijol: López, M.; Fernández F.; Schoonhoven A.V. (eds.). Investigación y Producción. CIAT, Colombia. pp:61-78.
- Fernández, V., Winkelmann, B. and Ebert, G. 2004. Iron supply to tobacco plants through foliar application of iron citrate and ferric dimerum acid. *Physiology Plantarum*, 122:380–385.
- Gálvez, A. y Salinas, G. 2015. El papel del fríjol en la salud nutrimental de la población mexicana. *Revista Digital Universitaria* 16(2):1-16.
- Gamez, E.J.C., Luyengi, L., Lee, S.K., Zhu, L., Zhou, B., Fong, H.H.S., Pezzuto, J.M. and Kinghorn, A.D. 1998. Antioxidant flavonoid glycosides from *daphniphyllum calycinum*. *Journal of Natural Products* 61:706–708.
- García, M.L. 2009. Contenido total de taninos condensados en las variedades Pinto Zapata, Azufrado Higuera, Negro 8025 y Bayo Madero de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocidas por calentamiento óhmico. Tesis Maestro en Ciencias. Centro de Investigación en Ciencias y Tecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional. Querétaro. 56p.
- Gomez-Becerra, H.F., Erdem, H., Yazici, A., Tutus, Y., Torun, B., Ozturk, L. and Cakmak, I. 2010. Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. *Journal Cereal Science* 52:342-349.
- Gouveia, C.S.S., Freitas, G., De Brito, J.H., Slaski, J.J. and De Carvalho, M.A.A.P. 2014. Nutritional and mineral variability in 52 accessions of common bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) from Madeira Island. *Agriculture Science* 5:317-329.
- Hurell, R.F., Reddy, M. and Cook, J.D. 1999. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition* 81:289-295.

- Izquierdo, P., Astudillo, C., Blair, M.W., Iqbal, A.M., Raatz, B. and Cichy, K.A. 2018. Meta-QTL analysis of seed iron and zinc concentration and content in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 131(8):1645-1658.
- Juárez, M., Cerdan, M., Sánchez-Sánchez, A. 2010. Hierro en el sistema suelo-planta. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. Argentina. 32p.
- Kobayashia, T., Nozoye, T. and Nishizawaa, N.K. 2019. Iron transport and its regulation in plants. *Free Radical Biology and Medicine* 133:11–20.
- Kutman, U.B., Yildiz, B. and Cakmak, I. 2011. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant Soil* 342:149-164.
- Lara-Flores M. 2015. El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria* 16(2):1-11.
- Lépiz, I.R., López, A.J.J., Sánchez, G.J.J., Santacruz-Ruvalcaba, F., Nuño, R.R. y Rodríguez, G.E. 2010. Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33(1):21–28.
- Meza-Vázquez, K.E., Lépiz-Ildefonso, R., López-Alcocer, J.J. y Morales-Rivera, M.M. 2015. Caracterización morfológica y fenológica de especies silvestres de frijol (*Phaseolus*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 38(1):17-28.
- Miquilena, E. y Higuera, A. 2012. Evaluación del contenido de proteína, minerales y perfil de aminoácidos en harinas de *Cajanus cajan*, *Vigna unguiculata* y *Vigna radiata* para su uso en la alimentación humana. *Revista Científica UDO Agrícola*: 12 (3):730-740.
- Morales-Morales, A.E., De la Cruz-Lázaro, E., Osorio-Osorio, R., Sánchez-Chávez, E., Trejo, A.M. y Márquez-Quiroz, C. 2016. Contenido mineral y rendimiento de germinados de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*

- 2:3415-3425.
- Moreno-Moyano, L.T, Bonneau, J.P., Sánchez-Palacios, J.T., Tohme, J. and Johnson, A.A.T. 2016. Association of increased grain iron and zinc concentrations with agromorphological traits of biofortified rice. *Frontiers in Plants Science* 7(1463):1-13.
- Mori, S. (1998). Iron transport in graminaceous plants. *In: Metal ions in biological systems*. Sigel, A. and Sigel, H. (eds). New York: Marcel Decker. pp. 215–238.
- Omae, H., Kumar, A. and Shono, M. 2012. Adaptation to high temperature and water deficit in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the reproductive period. *Journal of Botany*. Article ID 803413:1-7.
- Ortega-Blu, R. y Molina-Roco, M. 2007. Comparación entre sulfatos y compuestos quelados como fuente de zinc y hierro en suelos calcáreos. *Agrociencia* 41(5):491-502.
- Perea, E., Ojeda, D., Hernández, A., Ruiz, T. y Martínez, J. 2010. Utilización de quelatos en la agricultura. *Aventuras del Pensamiento* 53:1-5.
- Pérez, G., Vittori, D., Pregi, N., Garbossa, G. y Nesse, A. 2005. Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 39(3):301-314.
- Pinheiro, C., Baeta, J.P., Pereira, A.M., Domingues, H. and Ricardo, C.P. 2010. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis* 23:315-324.
- Rasool, S., Nazir, M., Sofi, P.A., Murtaza, I., Shikari, A.B., Shah, M.D., Nazir, N., Nehvi, F.A. and Zargar, S.M. 2019. Mineral profiling of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm. *Indian Journal Agriculture Research* 53(3):270-276.
- Raya-Pérez, J. C., Gutiérrez-Benicio, G. M., Ramírez-Pimentel, J. G., Covarrubias-Prieto, J. y Aguirre-Mancilla, C. L. 2014. Caracterización de proteínas y contenido mineral de

- dos variedades nativas de frijol de México. *Agronomía Mesoamericana* 25:1-11.
- Rehman, H.M., Cooper, J.W., Lam, H.M. and Yang, S.H. 2018. Legume biofortification is an underexploited strategy for combatting hidden hunger. *Plant, Cell and Environment* 42:52-70.
- Rendón-Anaya, M., Montero-Vargas, J.M., Saburido-Álvarez, S., Vlasova, A., Capella-Gutierrez, S., Ordaz-Ortiz, J.J., Aguilar, O.M., Vianello-Brondani, R.P., Santalla, M., Delaye, L., Gabaldón, T., Gepts, P., Winkle, R., Guigó, R., Delgado-Salinas, A. and Herrera-Estrella, A. 2017. Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. *Genome Biology* 18(1):1-17.
- Rivera-Ortiz, P., Castro-Meza, B.I. y Garza-Requena, F.R. 2009. Clorosis ferrica en cítricos y fertilización foliar. *Terra Latinoamericana* 27(1):11-16.
- Saeid, A. and Jastrzębska, M. 2018. Agronomic biofortification as a key to plant/cereal fortification in micronutrients. *In: Agnieszka Saeid (ed.). Food Biofortification Technologies.* CRC Press. Boca Raton, Florida, pp.1-59.
- Shahzad, Z., Rouached, H. and Rakha, A. 2014. Combating mineral malnutrition through iron and zinc biofortification of cereals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13(3):329-346.
- SIAP. 2018. Avance de siembras y cosechas. Resumen nacional por cultivo. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do. Consultado el 18 de abril de 2018.
- Sida-Arreola, J.P., Sánchez-Chávez, E., Ávila-Quezada, G.D., Zamudio-Flores, P.B. and Acosta-Muñiz, C.H. 2015. Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental* 61(12): 573-576.

- Sperotto, R.A. and Ricachenevsky, F.K. 2017. Common bean Fe biofortification using model species' lessons. *Frontiers in Plant Science* 8(2187). Doi:10.3389/fpls.2017.02187
- Ulloa, J.A., Ulloa, P.R., Ramírez, R.J.C. y Ulloa, R.B.E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente* 3(8):5-9.
- White, P.J. and Broadley, M.R. 2005. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science* 10(12):586-593.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPITULO I

Edaphic and foliar biofortification of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with iron

ABSTRACT

With the objective of determining the effect of iron on mineral content, proximal composition, bioactive compounds and antioxidant activity in bean grain (*Phaseolus vulgaris* L.), an experiment was conducted in which edaphic doses of iron sulfate (0, 0.25, and 0.50 g) and foliar iron chelate (0, 25, 50 and 100 μ M) were applied. Edaphic and foliar biofortification increased the iron content in the grain, while zinc decreased it. All combinations with some edaphic or foliar dose of iron increased the ashes, fat, proteins, crude fiber, total phenols and anthocyanins content, while the carbohydrate and energy content decreased. The greatest antioxidant activities (84.96-89.76%) were nine combinations, including the control.

Key words: Antioxidant activity, anthocyanins, bioactive compounds, phenols, crude fiber, protein.

INTRODUCTION

Plants are the main source of iron in our diet, directly as a basic crop or vegetables or indirectly as fodder for animals. Biofortification is an approach that can be sustainable in the long term to increase the mineral content in the edible part of plants (Connorton and Balk, 2019), as well as being economical and effective (Li *et al.*, 2018). Biofortification programs focus on increasing the iron, zinc, selenium and vitamin A content, to complement and

sometimes replace the fortification or chemical supplementation of minerals (Connorton and Balk, 2019). Iron deficiency affects over 30% of the world's population (Feitosa *et al.*, 2018) affecting women, children and babies more (Haas *et al.*, 2016).

In Mexico, Black beans have an average of 52 mg kg⁻¹ of iron with a variability between 24.8 and 57.5 mg kg⁻¹ (Chávez-Mendoza and Sánchez, 2017) which is an advantage because allows to start the biofortification process with high levels of iron. Reports have shown that the iron content in beans increased after the biofortification by edaphic and foliar applications, however a chelate application was more efficient (Sida-Arreola *et al.*, 2015). HarvestPlus reported that the goal of iron-bean biofortification programs must be at least 94 mg kg⁻¹ (Sperotto and Ricachenevsky, 2017) but biofortification increments in beans is limited due to the low bioavailability of iron, which is associated with the antinutrients content, such as polyphenols and phytates that function as inhibitors (Petry *et al.*, 2014). Therefore, the objective was to determine the effect of iron on the mineral content, proximal composition, bioactive compounds and antioxidant activity in the bean grain.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at the nursery and greenhouse area of the Academic Division of Agricultural Sciences of the Juárez Autonomous University of Tabasco, in the municipality of Centro, Tabasco, Mexico; at 17°46'56" from LN and 92°57'28" LO, with an altitude of 21 m.

Sowing was carried out in December 2018 on a soil that had 8.9 mg kg⁻¹ of iron and 1.9 mg kg⁻¹ of zinc. The distance between rows was 0.60 m and 0.20 m between plants, depositing three seeds per point, to have a planting density of 200,000 plants per hectare. Creole bean seed (*P. vulgaris*) was used, with an average flowering of 44 days and maturity to harvest of

90 days after sowing (DAS), fertilization was performed with 64-46-00 formula of N-P-K and the management of the crop was according to INIFAP (2017).

Twelve treatments combining edaphic doses of 0, 0.25, and 0.50 g of iron sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) and foliar doses of 0, 25, 50 and 100 μM of iron chelate (EDDHA 6%) were used. The edaphic applications were made in the emergence, pre-flowering and filling of pods; while the foliar were made every 10 days from flowering to maturity, to have a total of four applications.

The iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu) and nickel (Ni) content was quantify in the grains of each treatment and repetition by atomic absorption spectrophotometry. While the content of moisture, ash, crude fiber and fat was determined by the methods of the AOAC (2000). The protein content was determined with the Dumas method (Calvo *et al.*, 2008), carbohydrates with the formula: % Carbohydrates = $100 - (\text{Ashes} + \text{Protein} + \text{Fat} + \text{Humidity})$, and energy in Kcal 100 g^{-1} with the formula: Kcal Energy = $[(\text{fat} \times 9) + (\text{carbohydrates} \times 4) + (\text{protein} \times 4)]$.

The total phenolic content was determined by the spectrophotometric Folin-Ciocalteu method using a standard curve of gallic acid from 10 to 100 mg ml^{-1} (Singleton and Rossi, 1965), the results are reported in milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per grams of dry matter ($\text{mg GAE g}^{-1} \text{ DM}$). Flavonoid content was quantified with the method proposed by Zhishen *et al.* (1999) and reported in milligrams equivalent to catechin per gram per dry matter ($\text{mg CE g}^{-1} \text{ DM}$). Anthocyanin content was measured with a differential pH method (Wrolstad, 1976), and reported in milligrams of cyanidine-3-glucoside per gram of dry matter ($\text{mg C3G g}^{-1} \text{ DM}$) and the percentage of antioxidant activity was determined by the DDPH method (Hsu *et al.*, 2003).

The data were analyzed under a randomized complete block design in a 3×4 factorial arrangement, the edaphic dose was the first factor and was the leaf dose the second. To determine differences between treatments, mean comparisons were made with the LSD test ($p < 0.01$). All analyzes were performed with the SAS 9.2 statistical software.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the mineral content of the *P. vulgaris* grains biofortified with iron with statistical differences ($p < 0.01$) between individual and combined treatments. The edaphic application had no statistical differences between doses of iron and copper, which indicates that the edaphic application did not increase the iron content. It is known that edaphic applications of iron are not efficient, because they are affected by the rapid and strong union of iron with soil particles, which prevents its absorption (Fernández *et al.*, 2004). Statistical differences were observed between edaphic doses of zinc and nickel with an antagonistic effect, as the iron dose increased, the zinc content decreased, which coincides with the antagonism of these minerals (Głowacka *et al.*, 2015). The opposite was observed with nickel with a synergistic effect between these minerals, since the increase in the iron dose also increased the nickel content. Rahman *et al.* (2005) reported that the iron and nickel content increases within the plant due to their similar chemical and physiological properties. The foliar application showed differences between the control (0 μM) and the different doses of iron and zinc.

The highest iron content was obtained with 50 μM , when increasing to 100 μM , the iron content decreased, but all foliar doses increased the iron content regarding the control. The highest iron content with 50 μM coincides with Guillén-Molina *et al.* (2016) who report that the doses with the greatest increase in the grain of *Vigna unguiculata* was with 50 μM of

iron. Different results are reported in the literature in response to the foliar application of iron, maybe because the penetration of the solution applied in the leaf is complex and depends on environmental and plant factors (Fernández *et al.*, 2015). The highest zinc content was found in the control, meanwhile with different doses of edaphic or foliar iron, the concentration decreased because the antagonistic effect of these minerals (Głowacka *et al.*, 2015).

For the edaphic and foliar combinations, statistical differences were found in the mineral content ($p \leq 0.01$). The highest iron content was found combining 0.25 g edaphic - 100 μM foliar (72.07 mg kg^{-1}) followed 0 g edaphic - 50 μM foliar (70.65 mg kg^{-1}), the combination 0 g edaphic - 0 μM foliar (control) had the lowest content (51 mg kg^{-1}). The two combinations with the highest iron content are better to the control by 38.5 and 41.3%, values that are greater than the 29% increase in beans biofortified with iron (Sida-Arreola *et al.*, 2015). For zinc, it is observed that as the iron dose increases, zinc decreases, which corroborates the antagonistic effect of these minerals (Głowacka *et al.*, 2015). The highest copper content was obtained with the control, while combinations with some edaphic or foliar dose decrease the copper content. However, the control had a low nickel content, while the combinations with some dose of iron increased it, the combination 0.50 g edaphic - 50 μM foliar showed the highest nickel content (8.26 mg kg^{-1}).

Table 1. Mineral content of biofortified Creole bean grains with iron

Edaphic (g)	Foliar μM	Iron	Zinc	Cooper	Nickel
		mg kg^{-1}			
0	0	51.00 ^c	24.87 ^a	10.80 ^a	7.72 ^{bc}
0	25	55.57 ^{abc}	14.11 ^{bc}	9.90 ^{abc}	7.92 ^{abc}
0	50	70.65 ^{ab}	22.22 ^{ab}	9.55 ^{abc}	7.66 ^c
0	100	52.18 ^c	15.62 ^{bc}	9.94 ^{abc}	7.78 ^{abc}
0.25	0	61.08 ^{abc}	15.30 ^{bc}	8.67 ^c	8.02 ^{abc}
0.25	25	66.57 ^{abc}	15.63 ^{bc}	10.20 ^{ab}	7.92 ^{abc}
0.25	50	59.55 ^{abc}	11.06 ^c	9.35 ^{abc}	8.39 ^{ab}
0.25	100	72.07 ^a	11.35 ^c	9.64 ^{abc}	8.39 ^{ab}
0.5	0	53.40 ^c	15.38 ^{bc}	9.95 ^{abc}	8.03 ^{abc}
0.50	25	54.15 ^{bc}	13.37 ^c	9.05 ^{bc}	8.23 ^{abc}
0.50	50	67.50 ^{abc}	7.60 ^c	10.55 ^a	8.46 ^a
0.50	100	56.90 ^{abc}	8.74 ^c	9.97 ^{abc}	8.26 ^{abc}
Edaphic	0	57.35 ^a	19.20 ^a	10.05 ^a	7.77 ^b
	0.25	64.82 ^a	13.34 ^b	9.46 ^a	8.18 ^a
	0.50	57.98 ^a	11.27 ^b	9.88 ^a	8.24 ^a
Foliar	0	55.16 ^b	18.52 ^a	9.81 ^a	7.92 ^a
	25	58.76 ^{ab}	14.37 ^{ab}	9.72 ^a	8.02 ^a
	50	65.90 ^a	13.63 ^{ab}	9.82 ^a	8.17 ^a
	100	60.38 ^{ab}	11.90 ^b	9.85 ^a	8.14 ^a

Different letters within the column indicate statistical differences according to the LSD test ($p \leq 0.01$).

Beans are an excellent source of protein, raw fiber, fat, carbohydrates and energy (Table 2).

With the edaphic application, statistical differences ($p \leq 0.01$) were found in the protein, fat and carbohydrate content; while with the foliar application, statistical differences were observed of humidity, ashes, carbohydrates and energy. By increasing the edaphic dose, the

protein and fat content increased, while increasing the foliar dose, increases moisture and ashes. The carbohydrate content decreased as the dose of edaphic iron increased, however the carbohydrate and energy content increased with the foliar application. It was observed that as the edaphic or foliar dose increased, the moisture content, ashes, proteins and crude fiber increased regarding the control. The increase in edaphic or foliar combinations also increased the content of ashes (2.91 to 3.64%), protein (19.75 to 21.43%) and crude fiber (1.91 to 2.1%). The high ash content found in the combinations indicates that the application of iron increases the mineral content in the grain, while the high protein content of the combinations may be related to the high iron content of the combinations (Table 1). Cakmak *et al.* (2010) reported that increasing the protein concentration in the grain also increases the storage capacity of iron. Gomez-Becerra *et al.* (2010) reported that the ability to accumulate iron depends on the amount of protein in the grain. The crude fiber content ranged from 1.54-2.1% and the iron combinations were higher than the control, indicating that iron increases the raw fiber content and are values that are within the reported for biofortified beans (Brigide *et al.*, 2014). The control had the highest carbohydrate and energy contents (68.83% and 371.53 Kcal 100 g⁻¹), while the edaphic or foliar iron combinations decreased the content regarding the control.

Table 2. Proximal composition of biofortified Creole bean grains with iron

Edaphic (g)	Foliar (μ M)	Humidity y %	Ash %	Protein %	Fat %	Fiber %	Carbohydrate %	Energy Kcal· 100 g ⁻¹
0	0	5.36 ^f	2.60 ^c	19.56 ^d	1.90 ^{ab}	1.54 ^b	68.83 ^a	371.53 ^a
0	25	6.61 ^a	2.91 ^{bc}	20.14 ^{bcd}	1.99 ^a	2.10 ^a	66.27 ^{bcd}	363.43 ^{de}
0	50	6.12 ^{bc}	3.31 ^{ab}	20.60 ^{abcd}	1.70 ^{cd}	1.94 ^a	66.30 ^{bcd}	363.00 ^e
0	100	5.73 ^e	3.64 ^a	20.41 ^{abcd}	1.78 ^{bcd}	1.98 ^a	66.47 ^{bcd}	363.50 ^{de}
0.25	0	5.84 ^{cde}	3.24 ^{ab}	21.43 ^a	1.80 ^{bc}	2.08 ^a	65.63 ^{cd}	364.30 ^{cde}
0.25	25	5.94 ^{bcde}	2.89 ^{bc}	21.23 ^a	1.63 ^d	2.06 ^a	66.23 ^{bcd}	364.60 ^{cde}
0.25	50	6.03 ^{bcd}	3.16 ^{abc}	19.75 ^{cd}	1.93 ^{ab}	1.92 ^a	67.40 ^b	365.20 ^{bcd}
0.25	100	5.82 ^{de}	3.30 ^{ab}	20.94 ^{ab}	1.97 ^a	1.91 ^{ab}	66.07 ^{cd}	365.73 ^{bcd}
0.50	0	6.00 ^{bcde}	2.91 ^{bc}	20.76 ^{abc}	1.93 ^{ab}	1.96 ^a	66.47 ^{bcd}	366.17 ^{bc}
0.50	25	5.71 ^e	2.93 ^{bc}	20.54 ^{abcd}	1.93 ^{ab}	1.97 ^a	66.90 ^{bc}	367.27 ^b
0.50	50	6.08 ^{bcd}	2.92 ^{bc}	21.22 ^a	2.00 ^a	2.05 ^a	65.73 ^{cd}	365.80 ^{bcd}
0.50	100	6.24 ^b	3.10 ^{abc}	21.10 ^{ab}	1.95 ^a	2.06 ^a	65.57 ^d	364.17 ^{cde}
Edaphic	0	5.96 ^a	3.12 ^a	20.22 ^b	1.84 ^b	1.89 ^a	66.97 ^a	365.37 ^a
	0.25	5.91 ^a	3.15 ^a	20.79 ^a	1.83 ^b	1.99 ^a	66.33 ^{ab}	364.96 ^a
	0.50	6.01 ^a	2.96 ^a	20.91 ^a	1.95 ^a	2.01 ^a	66.17 ^b	365.85 ^a
Foliar	0	5.73 ^b	2.92 ^b	20.65 ^a	1.87 ^a	1.86 ^a	66.98 ^a	367.33 ^a
	25	6.09 ^a	2.91 ^b	20.64 ^a	1.85 ^a	2.04 ^a	66.47 ^{ab}	365.10 ^b
	50	6.08 ^a	3.13 ^{ab}	20.46 ^a	1.87 ^a	1.97 ^a	66.48 ^{ab}	364.67 ^b
	100	5.93 ^a	3.35 ^a	20.82 ^a	1.90 ^a	1.99 ^a	66.03 ^b	364.47 ^b

Different letters within the column indicate statistical differences according to the LSD test ($p \leq 0.01$).

Bioactive compounds like anthocyanins showed statistical differences ($p \leq 0.01$) with an edaphic application while in a foliar form, statistical differences were found in total phenols and flavonoids content, and antioxidant activity (Table 3). The highest total phenolic content was obtained with 50 μ M of iron chelate, it decreased with 100 μ M. This increase is also

observed with the edaphic application, but without statistical differences. Phenolic compounds in food play an important role in human health, due to their antioxidant, anti-inflammatory, antiviral and anticancer properties (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2010). The highest total phenolic content was with 50 μM . With the iron combinations, the total phenolic content varied between 3.85-7.37 mg GAE g^{-1} DM but all doses were higher than the control, the combination 0.25 g edaphic - 50 μM stands out. In general, the combination's content was greater than 3.44 mg GAE g^{-1} DM of total phenols reported for black beans (Silva *et al.*, 2018), indicating that the iron combinations increase the content, which can be due to the effect of the stress of the combinations in the plant, since the phenolic compounds are originated by the effect of the secondary metabolism in response to the ecological and physiological pressures in the plants (Lattanzio, 2013).

The flavonoid content had statistical differences between edaphic and foliar doses, higher doses presented the lowest content. The combinations had statistical differences of catechin with contents between 0.41-1.53 mg g^{-1} DM, but the combinations 0.50 g edaphic - 50 μM foliar, and 0.50 g edaphic - 100 μM foliar that had the highest iron content, decreased the content of flavonoids; which coincides with the individual effects of edaphic and foliar doses, since as the dose increased, the flavonoid content decreased. For anthocyanins, statistical differences were found in the edaphic application, with the doses of 0 and 0.25 g presenting the highest contents, while for the foliar application no statistical differences were detected, but there is a tendency to increase with the dose. In the combinations, values between 0.76-1.64 mg EC3G g^{-1} extract were found, with the lowest value being the control combination. In general, the anthocyanin contents are similar to those reported by Armendáriz-Fernández *et al.* (2019) for Mexican bean varieties. Within the dose, the combinations that stand out are:

0 g edaphic - 25 μ M foliar, 0.25 g edaphic - 0 μ M foliar, and 0 g edaphic - 25 μ M foliar with the highest contents.

The antioxidant activity of the iron combinations ranged from 79.63 to 89.76%, with the highest value being the 0.25 g edaphic - 0 μ M foliar combination, which was statistically similar to the antioxidant activity that had eight combinations, including the control. In this regard, Armendáriz-Fernández *et al.* (2019) reported that the antioxidant activities in black beans is like those found in this work. Salinas *et al.* (2005) indicated that the antioxidant activity is related to the presence of compounds that give color to the seed coat, with black grains presenting high antioxidant activity.

Table 3. Bioactive compound content and antioxidant activity of biofortified Creole bean grains with iron.

Edaphic (g)	Foliar (μM)	Total phenols (mg GAE g ⁻¹ DM)	Flavonoids (mg CE g ⁻¹ DM)	Anthocyanins (mg EC3G g ⁻¹ extract)	Antioxidant Activity (%)
0	0	3.85 ^e	0.89 ^{bc}	0.76 ^e	86.82 ^{ab}
0	25	5.49 ^{bcd}	1.03 ^b	1.64 ^a	86.84 ^{ab}
0	50	6.75 ^{ab}	0.71 ^{bcd}	1.43 ^{abc}	85.13 ^{abcd}
0	100	6.06 ^{abc}	0.96 ^b	1.39 ^{abcd}	84.36 ^{abcd}
0.25	0	6.18 ^{abc}	1.53 ^a	1.48 ^{ab}	89.76 ^a
0.25	25	4.40 ^{de}	0.82 ^{bcd}	0.89 ^{cde}	86.66 ^{ab}
0.25	50	7.37 ^a	0.49 ^{de}	1.37 ^{abcd}	79.63 ^d
0.25	100	5.12 ^{cde}	0.97 ^b	1.32 ^{abcd}	80.66 ^{cd}
0.50	0	6.60 ^{ab}	0.56 ^{cde}	1.14 ^{abcde}	85.42 ^{abc}
0.50	25	5.74 ^{bcd}	0.54 ^{cde}	0.91 ^{cde}	81.23 ^{bcd}
0.50	50	4.99 ^{cde}	0.42 ^e	0.86 ^{de}	84.96 ^{abcd}
0.50	100	5.94 ^{abc}	0.41 ^e	0.97 ^{bcd}	86.69 ^{ab}
Edaphic	0	5.54 ^a	0.90 ^a	1.30 ^a	85.79 ^a
	0.25	5.77 ^a	0.95 ^a	1.27 ^a	84.57 ^a
	0.50	5.82 ^a	0.49 ^b	0.97 ^b	84.18 ^a
Foliar	0	5.21 ^b	0.99 ^a	1.13 ^a	87.33 ^a
	25	5.54 ^b	0.80 ^a	1.15 ^a	84.91 ^{ab}
	50	6.37 ^a	0.78 ^a	1.22 ^a	83.24 ^b
	100	5.71 ^{ab}	0.54 ^b	1.23 ^a	83.90 ^b

Different letters within the column indicate statistical differences according to the LSD test ($p \leq 0.01$).

CONCLUSION

Bean biofortification with edaphic doses of iron sulfate and iron chelate foliates influences the mineral content, proximal composition, bioactive compounds and antioxidant activity of the grain. The highest iron contents were in the combinations 0.25 g edaphic - 100 μ M foliar, and 0 g edaphic - 50 μ M foliar. In general, all combinations with some dose of iron increased the ashes, fat, proteins, crude fiber, total phenols and anthocyanins content, while carbohydrate and energy content decreased with combinations with iron. The highest antioxidant activities were nine combinations, including the control combination with values ranging from 84.96-89.76%.

REFERENCES

- AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Association of Official Analytical Chemist. Oakville, MD, USA.
- Armendáriz-Fernández, K.V., Herrera-Hernández, I.M., Muñoz-Márquez, E., Sánchez, E. (2019). Characterization of bioactive compounds, mineral content, and antioxidant activity in bean varieties grown with traditional methods in Oaxaca, Mexico. *Antioxidants*, **8(1)**:26. Doi: 10.3390/antiox8010026.
- Brigide, P., Canniatti-Brazaca, S.G., Silva, M.O. (2014). Nutritional characteristics of biofortified common beans. *Food Science and Technology*, **34(3)**: 493-500.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W.H., McClafferty, B. (2010). Review: Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry*, **87**:10–20.
- Calvo, N.I.R., Echeverría, H.E., Rozas, H.S. (2008). Comparación de métodos de determinación de nitrógeno y azufre en planta: Implicancia en el diagnóstico de azufre en trigo. *Ciencia del Suelo*, **26(2)**:161–167.

- Chávez-Mendoza, C., Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, **22(1360)**:
Doi:10.3390/molecules22081360
- Cevallos-Casals, B.A., Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, **119(4)**:1485–1490.
- Connorton, J.M., Balk, J. (2019). Iron biofortification of staple crops: Lessons and challenges in plant genetics. *Plant Cell Physiology*, **60(7)**:1447–1456.
- Feitosa, S., Greiner, R., Meinhardt, A.K., Müller, A., Almeida, D.T., Posten, C. (2018). Effect of traditional household processes on iron, zinc and copper bioaccessibility in black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Foods*, **7(123)**:1-12.
- Fernández, V., Winkelmann, B., Ebert, G. (2004). Iron supply to tobacco plants through foliar application of iron citrate and ferric dimerum acid. *Physiology Plantarum*, **122**:380–385.
- Fernández, V., Sotiropoulos, T., Brown, P. (2015). Fertilización foliar: Principios científicos y práctica de campo. Primera Edición. Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes. Paris, Francia.
- Głowacka, A., Klikocka, H., Onuch, J. (2015). Content of zinc and iron in common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) in different weed control methods. *Journal of Elementology*, **20(2)**:293-30.
- Gomez-Becerra, H.F., Erdem, H., Yazici, A., Tutus, Y., Torun, B., Ozturk, L., Cakmak, I. (2010). Grain concentrations of protein and mineral nutrients in a large collection of spelt wheat grown under different environments. *Journal Cereal Science*, **52**:342-349.

- Guillén-Molina, M., Márquez-Quiroz, C., De-la-Cruz-Lázaro, E., Velázquez-Martínez, J.R., Soto-Parra J.M., García-Carrillo, M., Orozco-Vidal, J.A. (2016). Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con hierro y zinc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Pub. Esp. Núm. **17**:3427-3438.
- Haas, J.D., Luna, S.V., Lung'aho, M.G., Wenger, M.J., Murray-Kolb, L.E., Beebe, S., Gahutu, J.B., Egli, I.M. (2016). Consuming iron biofortified beans increases iron status in Rwandan women after 128 days in a randomized controlled feeding Trial. *The Journal of Nutrition*, **146(8)**: 1586-1592.
- Hsu, C.L., Chen, W., Weng, Y.M., Tseng, C.Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, **83**:85–92.
- INIFAP (2017). Agenda técnica agrícola de Tabasco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México.
- Lattanzio V. (2013). Phenolic compounds: Introduction. In: Handbook Natural Products [Ramawat K., Mérillon J.M. (eds)]. Springer, Berlin, Heidelberg, 1543-1580.
- Li, K., Hu, G., Yu, S., Tang, Q., Liu, J. (2018). Effect of the iron biofortification on enzymes activities and antioxidant properties in germinated brown rice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **12(2)**:789–799.
- Petry, N., Egli, I., Gahutu, J.B., Tugirimana, P.L., Boy, E., Hurrell, R. (2014). Phytic acid concentration influences iron bioavailability from biofortified beans in Rwandese women with low iron status. *The Journal of Nutrition*, **144(11)**:1681-1687.
- Rahman, H., Sabreen, S., Alam, S., Kawai, S. (2005). Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, **28(3)**:393-404.

- Salinas, M.Y., Rojas, H.L., Sosa, M.E., Pérez, H.P. (2005). Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia*, **39**: 385–394.
- Sida-Arreola, J.P., Sánchez-Chávez, E., Ávila-Quezada, G.D., Zamudio-Flores, P.B., Acosta Muñiz, C.H. (2015). Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental*, **61(12)**:573–576.
- Silva, M.O., Brigide, P., Viva de Toledo, N.M., Canniatti-Brazaca, S.G. (2018). Phenolic compounds and antioxidant activity of two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) submitted to cooking. *Brazilian Journal of Food Technology*, **21**: e2016072. Doi: 10.1590/1981-6723.7216.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**:144-158.
- Sperotto, R.A., Ricachenevsky, F.K. (2017). Common bean Fe biofortification using model species' lessons. *Frontiers in Plant Sciences*, **8**: Article 2187. Doi: 10.3389/fpls.2017.02187.
- Wrolstad, R.E. (1976). Color and pigment analyses in fruit products. Oregon State University. *Bulletin*, **624**:1–7.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, **64**:555–559.

CAPITULO II

Biofortificación agronómica de granos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) con hierro

Agronomic biofortification of common bean grain (*Phaseolus vulgaris* L.) with iron

RESUMEN

La biofortificación es el proceso que mejora la biodisponibilidad de nutrientes esenciales en las partes comestibles de plantas cultivadas, por medios convencionales o técnicas de biotecnología moderna. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) biofortificados con hierro; se realizó un experimento en el que se aplicaron dosis edáficas de sulfato de hierro (0, 0.25 y 0.50 g) y foliares de quelato de hierro (0, 25, 50 y 100 μ M). En los granos se determinó el contenido de hierro, zinc, níquel, manganeso, calcio y potasio por cuantificación, además del contenido de cenizas, proteína, grasas fibra, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante. La biofortificación edáfica y foliar incrementa el contenido de hierro, níquel, cenizas, proteína y fibra en el grano, mientras que el zinc y la grasa disminuyen. Todas las combinaciones con alguna dosis edáfica o foliar de hierro incrementaron el contenido de cenizas, proteínas, fibra cruda, fenoles totales y antocianinas; mientras que el contenido de carbohidratos y energía disminuyen. La dosis 0.50 g - 100 μ M tuvo las mayores concentraciones de hierro, níquel, cenizas y fibra. Mientras que la actividad antioxidante fue estadísticamente similar para todas las dosis, incluyendo al testigo. Es factible incrementar el contenido de hierro, níquel, fibra

y proteína en los granos del frijol por medio de la biofortificación edáfica y foliar, sin disminuir el contenido de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., compuestos bioactivos, fenoles totales, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Biofortification is the process that improves the bioavailability of essential nutrients in the edible parts of cultivated plants, by conventional means or modern biotechnology techniques. The objective of determining the effect of iron on mineral content, proximal composition, bioactive compounds and antioxidant capacity in bean grain (*Phaseolus vulgaris* L.), an experiment was conducted in which edaphic doses of iron sulfate (0, 0.25, and 0.50 g) and foliar iron chelate (0, 25, 50 and 100 μ M) were applied. In the grains the content of iron, zinc, nickel, manganese, calcium and potassium were determined by quantification, in addition to the content of ash, protein, fat, fiber, total phenols, anthocyanins and antioxidant capacity. Edaphic and foliar biofortification increased the iron, nickel, ash, protein and fiber content in the grain, while zinc and fat decreased it. The dose 0.50 g - 100 μ M had the highest concentrations of iron, nickel, ash and fiber. While antioxidant activity was statistically similar for all doses, including the control. It is feasible to increase the content of iron, nickel, fiber and protein in beans through soil and foliar biofortification with iron, without decreasing the content of bioactive compounds and antioxidant activity.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., bioactive compounds, total phenols, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las principales fuentes de nutrientes en el mundo, por su alto contenido de proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas. Para más de 300 millones de personas en el mundo, es una fuente importante de nutrientes, aportando el 65% del total de las proteínas consumidas, el 32% de la energía, además de importantes cantidades de hierro, zinc, tiamina y ácido fólico (Petry *et al.*, 2015). Por su preferencia y consumo es la leguminosa más cultivada en América Latina, África y en el sur de Europa (Sperotto y Ricachenevsky, 2017). En México, es la leguminosa de mayor consumo, con una producción de 2015707 toneladas en una superficie de 245933 ha (SIAP, 2018). Su importancia también se refleja en un consumo *per cápita* anual de 18 kg, lo que representa el 36% de la ingesta diaria de proteínas en las comunidades rurales (Lara-Flores, 2015).

La carencia de hierro, es la deficiencia de micronutriente más común en el mundo, que afecta a más de 2000 millones de personas (Finkelstein *et al.*, 2017); lo que representa alrededor del 30% de la población mundial, de las cuales alrededor del 40% se encuentra en países en desarrollo (Vasconcelos *et al.*, 2017). Siendo los efectos más comunes la anemia en las mujeres embarazadas y el retraso en el desarrollo del crecimiento de los niños en edad preescolar, además de causar la mortalidad materna e infantil, y disminución del rendimiento físico de las personas adultas (López *et al.*, 2016; Kok *et al.*, 2018). En las plantas, el hierro es un micronutriente esencial, que se requiere con frecuencia en procesos como la fotosíntesis, la respiración y la biosíntesis de clorofila; por lo que tiene una gran importancia para el crecimiento de la planta (Connorton *et al.*, 2017). Aunque las necesidades de hierro en las plantas son bajas, su deficiencia se puede observar cuando las plantas se ponen cloróticas, lo que limita el crecimiento y causa pérdidas en el rendimiento y calidad en los cultivos (Li y Lan, 2017).

La biofortificación es un método eficaz y económico que sirve para incrementar el contenido y la biodisponibilidad de minerales y vitaminas en las plantas cultivadas (Finkelstein *et al.*, 2017), en particular las plantas que se utilizan como alimento básico en los países en desarrollo (De Valença *et al.*, 2017). La biofortificación agronómica, consiste en la aplicación de los minerales de interés por medio de la aplicación de fertilizantes al suelo o vía foliar (Cakmak *et al.*, 2010). Uno de los cultivos en proceso de biofortificación es el frijol, en el que se está trabajando para incrementar el contenido de hierro; debido a que es la leguminosa de mayor consumo en el mundo (Ates *et al.*, 2018). Para fines de biofortificación, el frijol negro en México tiene la ventaja de tener en promedio 52 mg kg⁻¹ de hierro, con variabilidad entre 24.8 y 57.5 mg kg⁻¹ (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017), lo que permite comenzar la biofortificación con niveles altos de hierro. Sobre la biofortificación del frijol con hierro, se reporta que el contenido en el grano se incrementa al realizar aplicaciones edáficas y foliares de forma simultánea, pero es más eficiente la aplicación de quelatos vía foliar (Sida-Arreola *et al.*, 2015). Al respecto, HarvestPlus reporta que el objetivo de los programas de biofortificación de frijol con hierro debe ser como mínimo de 94 mg kg⁻¹ (Sperotto y Ricachenevsky, 2017). Pero los incrementos de hierro en el grano de frijol, se pueden ver limitados debido a la baja biodisponibilidad del hierro, que se asocian con el contenido de antinutrientes, como polifenoles y fitatos que funcionan como inhibidores (Petry *et al.*, 2015). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de frijol biofortificados con hierro.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el área de viveros e invernaderos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), ubicado en el municipio de Centro, Tabasco, México (17°46'56" N y 92°57'28" W, 21 msnm). Con clima cálido húmedo, abundantes lluvias en verano, temperatura máxima promedio de 40 °C en el mes de mayo y mínima promedio de 21.7 °C en los meses de diciembre y enero. La precipitación pluvial promedio anual es de 2237 mm, siendo el mes de septiembre el más lluvioso y abril el de menor precipitación.

Establecimiento del cultivo

Se sembró la variedad Verdín, la cual es tolerante a la sequía terminal con floración promedio entre 34 y 37 días después de la siembra (dds) y madurez fisiológica entre 67 y 70 dds (Tosquy *et al.*, 2016). El suelo del área de siembra tiene un contenido de 10 mg kg⁻¹ de hierro, 1.0 mg kg⁻¹ de zinc y 3.0 mg kg⁻¹ de cobre; mientras que el nitrógeno, calcio, magnesio, potasio y sodio fueron de 0.24, 3.51, 0.35, 0.64 y 0.59 g kg⁻¹ de suelo, respectivamente; con pH de 5.94 y alto contenido de materia orgánica. La siembra se realizó en el mes de diciembre de 2018 bajo condiciones de temporal, en surcos a 0.60 m de distancia y entre plantas de 0.20 m, depositando tres semillas por punto, para tener una densidad de 200,000 plantas por hectárea. La fertilización se realizó al momento de la siembra con la fórmula 64-46-00 de N, P, K, recomendada para el cultivo de frijol (INIFAP, 2017). Se realizaron deshierbes a los 8, 15, 30 y 45 dds, a porque a los 30 dds, aplicación de Oxiclورو de cobre a los 16 dds para el control de antracnosis debido al exceso de humedad, y el control de plagas se realizó con cipermetrina a los 23 y 33 dds para controlar perforadores y masticadores en dosis de 200 mL ha⁻¹ del producto comercial (Tosquy-Valle *et al.*, 2014).

Biofortificación edáfica y foliar

La biofortificación edáfica se realizó con sulfato de hierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), en dosis de 0 (testigo), 0,25 y 0,50 g aplicados a 5 cm del tallo de planta a los 16, 45 y 55 dds; mientras que de forma foliar se aplicó quelato de hierro (EDDHA 6%) a dosis de 0 (testigo), 25, 50 y $100 \mu\text{M L}^{-1}$ hasta punto de rocío en las hojas a partir de la floración (34 dds), para continuar con aplicaciones a los 44, 54 y 64 dds. La combinación de las aplicaciones edáficas y foliares de hierro generó 12 tratamientos.

Contenido de mineral

La determinación del potasio (K), calcio (Ca), hierro (Fe), zinc (Zn), níquel (Ni) y Manganeseo (Mn) se realizó de acuerdo con Wolf (1982). Para realizar la determinación se mineralizó una muestra de 1 g por digestión triácida. El K, Ca, Fe, Zn, Ni y Mn se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica en un espectrofotómetro Thermo Scientific™ (iCE™ 3000 series AAS). Los macronutrientes se reportan en g kg^{-1} y los micronutrientes en mg kg^{-1} .

Composición proximal y compuestos bioactivos

El contenido de cenizas, fibra cruda y grasas se determinó por los métodos de la AOAC (2000), y la proteína con el método de Dumas (Calvo *et al.*, 2008). Para determinar el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se obtuvo un extracto enzimático del macerado de 1 g de cada tratamiento y repetición al que se le agregaron 10 mL de metanol al 80%, para luego centrifugar a 6000 rpm por 10 minutos a 4°C . El contenido de fenoles totales se determinó con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteau (Singleton y Rossi, 1965), mediante una curva patrón de ácido cafeico de 10 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para

determinarlo se tomaron 250 μL del extracto enzimático al que se le agregaron 750 μL de Na_2CO_3 al 2%, 250 μL de Folin-Ciocalteu al 50%, y 1375 μL de H_2O desionizada, para luego incubarlo en oscuridad a temperatura ambiente por 60 minutos. Para luego medir la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Spectrophotometer, Thermo Scientific, Génesis 10s-UV/Vis). Los resultados se reportan en miligramos de ácido cafeico por gramo de peso seco (mg AC g^{-1} PS). El contenido de flavonoides se determinó con el método propuesto por Zhishen *et al.* (1999). Para lo cual se tomaron 250 μL de extracto enzimático, al que se le agregaron 75 μL de NaNO_2 al 5%, y se agitó en un vortex y se dejó reposar por 5 minutos. Transcurrido el tiempo, se agregaron 150 μL de AlCl_3 al 10% y 500 μL de NaOH al 1M y 2,025 μL de H_2O tridestilada. Se agitó de nuevo en el vortex y se dejó reposar por 40 minutos. La lectura de la absorbancia se realizó a 510 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Spectrophotometer, Thermo Scientific, Génesis 10s UV/Vis). Los resultados se reportan en mg equivalente de catequina g^{-1} muestra (mg EC g^{-1} PS). El contenido de antocianinas totales se determinó por el método de pH diferencial propuesto por Wrolstad *et al.* (1990). La mezcla de reacción se realizó en dos fases: 1) Se colocaron 500 μL del extracto enzimático en un tubo de ensayo al que se le agregaron 2000 μL de cloruro de potasio a pH 1,0, para luego agitar en un vortex y leer la absorbancia a 460 nm. 2) Se colocaron 500 μL del extracto enzimático en un tubo de ensayo al que se le agregaron 2000 μL de acetato de sodio a pH 4,5 para luego agitar en un vortex y leer la absorbancia a 710 nm. La absorbancia se determinó en un espectrofotómetro de luz (Spectrophotometer, JENWAY 6405 UV/Vis). El contenido de antocianinas totales se determinó con la fórmula:

$$\text{Antocianinas totales} = (\text{Abs}_{460} - \text{Abs}_{710}) * 449.2 * 0.2 * \frac{1000}{26900}$$

Donde: 449.2 es el peso molecular, 0.2 el factor de dilución, 1000 una constante y 26900 cianidin-3-glucoside. Los resultados se reportan en mg de cianidina-3-glucosido g⁻¹ de peso seco (mg C3G g⁻¹ PS).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó por el método colorimétrico basado en la capacidad de los compuestos fenólicos para reducir o atrapar el radical 1,1-difenil-2-picril hidrazilo hidratado (DPPH) propuesto por Hsu *et al.* (2003). La solución de DPPH se preparó en metanol a 0,1 mM, en cantidad suficiente para el trabajo del día y se mantuvo al resguardo de la luz. Del extracto enzimático se tomaron 500 µL al que se le agregaron 2500 µL de solución DPPH. La mezcla se dejó reaccionar por 60 minutos en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se realizó la lectura de absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-VIS 6405, marca JENWAY. Los resultados se reportan en porcentaje de inhibición (% de inhibición) con la siguiente formula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{A \text{ muestra} - A \text{ blanco}}{A \text{ referencia}} \right) * 100$$

A muestra = absorbancia de la muestra, A blanco = absorbancia del blanco y A referencia = absorbancia de la referencia que contiene el radical DPPH.

Análisis estadístico

Los datos de la fertilización edáfica y foliar se analizaron bajo un arreglo factorial 3×4 con un diseño de bloques al azar, en donde el primer factor fueron las dosis edáficas de sulfato de hierro y el segundo las dosis foliares de quelato de hierro. Para determinar diferencias entre tratamientos se realizaron la prueba DMS (P≤0,01). Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta el contenido mineral de los granos de frijol variedad Verdín biofortificado con hierro, donde se observan diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) en los efectos individuales y las combinaciones. Para los efectos individuales se tuvieron los mayores contenidos de hierro con las dosis de 0.50 g edáficos y con 100 μM foliares, lo que indica que las mayores dosis de hierro incrementaron la concentración de este mineral en el grano. En las combinaciones el contenido de hierro osciló entre 50.22 (0.25 g edáfico – 0 μM foliar) y 89.98 mg kg^{-1} (0.50 g edáfico – 100 μM foliar). Todas las combinaciones edáficas y foliares con excepción de la combinación 0.25 g edáfico – 0 μM foliar, tuvieron contenidos mayores de hierro que la combinación testigo (0g edáfico – 0 μM foliar). El contenido estadísticamente similar del testigo y la combinación (0,25 g edáfico – 0 μM foliar) se puede deber a que fue la combinación con el menor contenido de hierro edáfico y sin aplicación de hierro foliar, al respecto Kok *et al.* (2018) reportaron que la aplicación edáfica de dosis bajas de hierro no tiene efecto en la nutrición de la planta, debido a la fuerte unión entre el hierro y el suelo, lo que reduce la absorción en la planta de este mineral. Con respecto, a las cuatro combinaciones con los mayores contenidos de hierro en el grano, estas fueron superiores a la combinación testigo entre un 47.62 y 75.91%, valores que son superiores al 29% reportado para frijol biofortificado con quelato y sulfato de hierro (Sida-Arreola *et al.*, 2015). Los mayores contenidos de hierro de todas las combinaciones de hierro edáfico y foliar coincide, con excepción de la dosis 0.25 g edáfico – 0 μM foliar, coincide con Cakmak *et al.* (2010), De Valença *et al.* (2017), y Saeid y Jastrzębska (2018) quienes mencionan que la aplicación simultánea de hierro edáfico y foliar es el método más eficiente para incrementar el contenido en las partes comestibles de las plantas.

Cuadro 1. Contenido mineral de granos de frijol variedad Verdín biofortificados con hierro

Edáfica (g)	Foliar (μM)	Hierro mg kg^{-1}	Zinc mg kg^{-1}	Níquel mg kg^{-1}	Manganeso mg kg^{-1}	Calcio g kg^{-1}	Potasio g kg^{-1}
0	0	51.15 ^e	33.49 ^a	5.88 ^f	11.20 ^{ab}	0.24 ^b	3.87 ^a
0	25	67.90 ^{bcd}	25.89 ^{abc}	6.21 ^{ef}	8.33 ^{bcd}	0.31 ^a	2.27 ^{cd}
0	50	65.00 ^{cde}	20.88 ^{cd}	6.15 ^f	11.76 ^a	0.24 ^b	2.92 ^{abcd}
0	100	75.51 ^{abc}	29.89 ^{abc}	6.12 ^f	8.97 ^{abcd}	0.27 ^{ab}	3.42 ^{abc}
0.25	0	50.22 ^e	26.57 ^{abc}	6.73 ^{de}	8.69 ^{abcd}	0.29 ^{ab}	2.46 ^{bcd}
0.25	25	57.22 ^{de}	24.56 ^{abc}	6.72 ^{de}	10.84 ^{abc}	0.26 ^{ab}	3.56 ^{ab}
0.25	50	69.57 ^{bcd}	28.92 ^{abc}	6.82 ^{cd}	7.91 ^{cd}	0.28 ^{ab}	2.29 ^{cd}
0.25	100	79.69 ^{abc}	21.62 ^{cd}	6.79 ^d	8.89 ^{abcd}	0.27 ^{ab}	2.70 ^{abcd}
0.50	0	70.31 ^{bcd}	25.21 ^{abc}	6.95 ^{bcd}	10.76 ^{abc}	0.28 ^{ab}	3.17 ^{abcd}
0.50	25	81.64 ^{ab}	32.22 ^{ab}	7.42 ^{ab}	6.77 ^d	0.32 ^a	2.00 ^d
0.50	50	64.72 ^{cde}	14.09 ^e	7.35 ^{abc}	8.57 ^{abcd}	0.26 ^{ab}	2.90 ^{abcd}
0.50	100	89.98 ^a	23.36 ^{bcd}	7.68 ^a	10.76 ^{abc}	0.31 ^{ab}	2.54 ^{bcd}
Edáfica	0	64.90 ^b	28.54 ^a	6.09 ^c	10.07 ^a	0.27 ^a	3.12 ^a
	0.25	64.18 ^b	25.42 ^a	6.76 ^b	9.09 ^a	0.28 ^a	2.75 ^a
	0.50	76.18 ^a	23.72 ^a	7.35 ^a	9.22 ^a	0.29 ^a	2.65 ^a
Foliar	0	66.59 ^b	28.42 ^a	6.52 ^b	10.22 ^a	0.27 ^a	3.17 ^a
	25	67.05 ^b	27.56 ^a	6.78 ^{ab}	8.65 ^a	0.30 ^a	2.61 ^a
	50	66.43 ^b	24.96 ^{ab}	6.77 ^{ab}	9.42 ^a	0.26 ^a	2.70 ^a
	100	74.24 ^a	21.30 ^b	6.87 ^a	9.55 ^a	0.28 ^a	2.89 ^a

Medias con letra diferente dentro de columna indican diferencias significativas según la prueba DMS ($P \leq 0.01$).

Los mayores contenidos de zinc se tuvieron con la dosis testigo edáfico (0 g) y foliar (0 μM), ya que al incrementar la dosis de hierro el contenido de zinc disminuye. Aunque para la aplicación edáfica no se tuvieron diferencias estadísticas entre las diferentes dosis, se observa una tendencia a que el zinc disminuya con el incremento de la dosis de hierro. Para la

aplicación foliar se observaron diferencias estadísticas entre las diferentes dosis aplicadas, presentando el menor contenido de zinc la dosis de 100 μM . En lo que respecta, a las combinaciones se observa que el contenido de zinc en el grano disminuye al incrementar la dosis edáfica o foliar, presentando el mayor contenido la combinación testigo (0 g edáfico – 0 μM foliar) con 33.49 mg kg^{-1} , mientras que el menor contenido se tuvo con la combinación 0.50 g edáfico – 50 μM foliar con 14.09 mg kg^{-1} . Tanto en las dosis individuales como en las combinaciones se observó que al incrementar la dosis, el contenido de zinc en el grano disminuyó; lo que se puede deber al efecto antagónico reportado entre estos minerales (Saha *et al.*, 2015). Para el níquel, se observó un efecto contrario al zinc, debido a que, al incrementar de la dosis de hierro edáfico o foliar, también aumentó el contenido de níquel en el grano, lo que indica un efecto sinérgico entre estos minerales, presentando los mayores contenidos las dosis de 0.50 g edáfico y 100 μM foliar. Al respecto, Rahman *et al.* (2005) reportan que el hierro y el níquel incrementan de forma similar dentro de la planta, debido a que tienen propiedades químicas y fisiológicas similares. Para las combinaciones se encontraron valores entre 5.88 y 7.68 mg kg^{-1} de níquel, presentando las combinaciones con el mayor contenido de hierro edáfico y con 25, 50 y 100 μM los mayores contenidos. Para el manganeso no tuvieron diferencias estadísticas entre las dosis edáficas y foliares aplicadas, mientras que en las combinaciones osciló entre 6.77 y 11.76 mg kg^{-1} , presentando el mayor contenido la combinación 0 g edáfico – 50 μM foliar, valor que es estadísticamente similar al contenido de otras ocho combinaciones. En lo referente al calcio y potasio, no se detectaron diferencias estadísticas cuando se aplicó de forma edáfica o foliar el hierro, mientras que en las combinaciones el contenido osciló entre 0.24 y 0.33 mg kg^{-1} de calcio y de 2.00 a 3.87 mg kg^{-1} de potasio. En lo que respeta a las combinaciones se observó que hubo efecto entre la aplicación edáfica y foliar, presentando el menor contenido la combinación

testigo, mientras que todas las combinaciones con algún contenido de hierro tuvieron contenidos mayores que el testigo. Para el potasio el mayor contenido lo tuvo la combinación testigo con 3.87 mg kg^{-1} , mientras que el menor contenido lo presentó la combinación $0.50 \text{ g edáfico} - 25 \text{ } \mu\text{M foliar}$ con 2.00 mg kg^{-1} ; presentando seis combinaciones contenidos similares estadísticamente que la combinación testigo.

En el Cuadro 2 se presenta la composición proximal de los granos de frijol biofortificado con hierro, donde se observan diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) en los efectos individuales y las combinaciones. Para el contenido de cenizas se encontraron diferencias estadísticas en los efectos individuales, presentando la aplicación edáfica testigo (0 g edáfico) el mayor contenido, para la aplicación foliar se encontró un efecto inverso, ya que el contenido de cenizas incrementó con el incremento de la dosis de hierro, presentado estadísticamente los mayores contenidos las dosis $25, 50$ y $100 \text{ } \mu\text{M}$. Al aumentar la dosis edáfica se observó que el contenido de proteínas y fibras incrementó, mientras que el contenido de cenizas y grasas disminuyó. Para la aplicación foliar se observa que, al incrementar la dosis, el contenido de cenizas, proteínas y fibras incrementan, mientras que el contenido de grasas disminuyó. En lo referente a las combinaciones, el contenido de cenizas osciló entre 3.20 y 6.87% , presentando el menor contenido la combinación testigo, mientras que el mayor contenido lo presentó la combinación $0.50 \text{ g edáfico} - 100 \text{ } \mu\text{M foliar}$, lo que indica que el incremento simultaneo de la dosis edáfica y foliar incrementan el contenido de ceniza. El contenido de proteína osciló entre 21.00 y 24.81% , presentando el menor contenido la combinación testigo, mientras que los mayores valores lo tuvieron las combinaciones $0.50 \text{ g edáfico} - 100 \text{ } \mu\text{M foliar}$ y $0.25 \text{ g edáfico} - 100 \text{ } \mu\text{M foliar}$, las cuales tuvieron altos contenidos de hierro (Cuadro 1), por lo que se puede inferir que el hierro y las proteínas se correlacionan de manera positiva. Al respecto Kutman *et al.* (2011) reportaron que el hierro es un componente

principal de las proteínas, mientras que Blancquaert *et al.* (2017) reportaron correlaciones positivas entre el contenido de proteína y la concentración de hierro en los granos de trigo. Para las combinaciones, el contenido de grasa osciló entre 1.08 y 3.76%, presentando el mayor contenido la combinación testigo, mientras que todas las dosis con algún contenido edáfico o foliar de hierro tuvieron contenidos menores estadísticamente, lo que indica que la aplicación de hierro disminuyó el contenido de grasas en los granos de frijol biofortificados con hierro. Para el contenido de fibras se encontraron valores entre 1.76 y 2.03 presentando el menor valor la combinación testigo, mientras que los mayores valores lo tuvieron las combinaciones con las mayores dosis edáficas y foliares, pero en general el contenido de fibras de las combinaciones se encuentra dentro de los contenidos de fibras reportados para frijol biofortificado (Brigide *et al.*, 2014).

Cuadro 2. Composición proximal de los granos de frijol variedad verdín biofortificados con hierro.

Edáfica (g)	Foliar (μ M)	Cenizas %	Proteína %	Grasas %	Fibra cruda %
0	0	3.20 ^e	21.00 ^c	3.76 ^a	1.76 ^d
0	25	3.91 ^d	22.91 ^{abc}	2.00 ^{bc}	1.88 ^d
0	50	5.41 ^b	21.22 ^{bc}	1.42 ^{bcde}	1.99 ^{ab}
0	100	5.41 ^b	23.41 ^{abc}	1.33 ^{cde}	1.95 ^{bc}
0.25	0	4.01 ^d	23.45 ^{abc}	2.08 ^{bc}	2.00 ^{ab}
0.25	25	4.10 ^d	24.12 ^{ab}	1.30 ^{de}	2.01 ^{ab}
0.25	50	6.49 ^{ab}	22.44 ^{abc}	1.11 ^e	1.92 ^{cd}
0.25	100	6.23 ^b	24.80 ^a	1.66 ^{bcde}	1.97 ^{abc}
0.50	0	5.08 ^c	23.40 ^{abc}	2.15 ^b	2.00 ^{ab}
0.50	25	6.37 ^{ab}	21.79 ^{bc}	1.45 ^{bcde}	2.01 ^{ab}
0.50	50	6.36 ^{ab}	22.35 ^{abc}	1.18 ^e	2.03 ^a
0.50	100	6.87 ^a	24.81 ^a	1.08 ^e	2.03 ^a
Edáfica	0	5.90 ^a	21.13 ^b	2.13 ^a	1.89 ^b
	0.25	5.01 ^b	23.35 ^{ab}	1.54 ^b	1.98 ^a
	0.50	4.88 ^b	23.44 ^a	1.46 ^b	2.00 ^a
Foliar	0	4.45 ^b	22.00 ^b	2.66 ^a	1.92 ^b
	25	5.43 ^a	22.30 ^{ab}	1.58 ^b	1.96 ^a
	50	5.61 ^a	23.73 ^a	1.24 ^b	1.97 ^a
	100	5.57 ^a	23.87 ^a	1.35 ^b	1.98 ^a

Medias con letra diferente dentro de columna indican diferencias significativas según la prueba DMS ($P \leq 0.01$).

Para el contenido de compuestos bioactivos, no se encontraron diferencias estadísticas en las dosis edáficas, ni foliares, aunque para fenoles totales, flavonoides y antocianinas se observó una tendencia a incrementar al aumentar la dosis edáfica o foliar. En lo que respecta a la capacidad antioxidante se detectaron diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) para la aplicación

edáfica y foliar, cuando el hierro se aplicó de forma edáfica los mayores valores se tuvieron con 0.25 y 0.50 g, en tanto que en la aplicación foliar la mayor capacidad antioxidante se tuvo sin aplicación de hierro (0 μM), aunque fue estadísticamente similar a la dosis de 100 μM , mientras que las dosis de 25 y 50 μM , tuvieron valores menores de capacidad antioxidante (Cuadro 3). Para el contenido de fenoles totales se observaron diferencias estadísticas en las combinaciones edáficas y foliares con valores que oscilaron entre 5.21 y 7.38 mg AC g^{-1} PS, lo que indica que hubo interacción entre las dosis edáficas y foliares de hierro. Los mayores contenidos de fenoles totales se tuvieron con las dosis 0.50 g edáfico – 50 μM foliar, 0.25 g edáfico – 25 μM foliar, 0 g edáfico – 100 μM foliar, 0.25 g edáfico – 50 μM foliar, 0.50 g edáfico – 100 μM foliar y 0.50 g edáfico – 0 μM foliar. En general, se observa que las combinaciones con las mayores dosis foliares incrementan el contenido de fenoles totales, mientras que las combinaciones con la mayor dosis edáfica, pero sin la aplicación foliar de hierro, el contenido de fenoles disminuyó como en la combinación 0.50 g edáfico – 0 μM foliar que tuvo el menor contenido de fenoles totales. De acuerdo al contenido máximo reportado para frijol crudo, ocho combinaciones evaluadas en el presente estudio tuvieron contenidos mayor de fenoles totales que el contenido máximo de 5.66 mg AC g^{-1} PS (Pérez-Pérez *et al.*, 2020), lo que indica que las dosis de hierro edáfico y foliar aplicadas incrementaron el contenido de fenoles totales. Para el contenido de flavonoides los valores oscilaron entre 0.47 y 0.69 mg catequina g^{-1} de ms, mientras que el contenido de antocianinas osciló entre 0.99 y 1.69 mg C3G g^{-1} PS, valores menores que el contenido de fenoles totales, lo que se debe a que son un subgrupo de compuestos fenólicos. Los flavonoides son metabolitos secundarios estructuralmente diversos en las plantas, que tienen desde funciones de regulación del desarrollo hasta protección UV (Mathesius, 2018). Por lo que es importante conocer el efecto del hierro sobre este compuesto fenólico, con excepción

de las combinaciones 0.25 g edáfico – 0 μM foliar y 0 g edáfico – 50 μM foliar, todas las dosis tuvieron contenidos similares estadísticamente, presentando los mayores contenidos de flavonoides las combinaciones 0.25 g edáfico – 25 μM foliar y 0.25 g edáfico – 50 μM foliar con 0.69 y 0.67 mg C3G g^{-1} PS. El contenido de flavonoides se encuentra en la media portada para frijoles de color negro (Oomah *et al.*, 2005). Para las antocianinas totales, se encontraron diferencias estadísticas en las combinaciones con valores entre 0.99 y 1.69 mg C3G g^{-1} PS, presentando el menor valor la combinación 0.25 g edáfico – 25 μM foliar. El contenido de antocianinas totales es similar al reportado por Armendáriz-Fernández *et al.* (2019) para variedades de frijol de México. Pero dentro de las combinaciones sobresale con el mayor contenido la combinación 0.50 g edáfico - 50 μM foliar valor que es similar al contenido que presentaron otras seis combinaciones.

Para la capacidad antioxidante las combinaciones tuvieron capacidad entre 78.81 y 86.20%, presentando contenidos estadísticamente similares 10 combinaciones, dentro de las que se encuentra el testigo. Al respecto Armendáriz-Fernández *et al.* (2019) reportan valores de capacidad antioxidante similares para frijoles negros de México. Sobre lo mismo Salinas *et al.* (2005) indican que la capacidad antioxidante se relaciona con la presencia de compuestos que dan color a la cubierta de la semilla y no con su contenido de compuestos fenólicos, presentando los granos de color negro mayores valores de capacidad antioxidante.

Cuadro 3. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos de frijol biofortificado con hierro

Edáfica (g)	Foliar (μM)	Fenoles totales (mg AC g ⁻¹ PS)	Flavonoides	Antocianinas	Capacidad
			(mg EC g ⁻¹ PS)	(mg C3G g ⁻¹ PS)	Antioxidante (%)
0	0	5.67 ^{cd}	0.54 ^{ab}	1.13 ^{bc}	86.20 ^a
0	25	5.21 ^d	0.53 ^{ab}	1.15 ^{bc}	83.87 ^{ab}
0	50	5.54 ^{cd}	0.47 ^b	1.29 ^{abc}	85.31 ^a
0	100	6.94 ^{abc}	0.62 ^{ab}	1.46 ^{ab}	83.59 ^{ab}
0.25	0	5.86 ^{bcd}	0.49 ^b	1.43 ^{abc}	84.33 ^{ab}
0.25	25	7.24 ^{ab}	0.69 ^a	1.21 ^{bc}	81.37 ^{bc}
0.25	50	6.64 ^{abcd}	0.67 ^{ab}	0.99 ^c	78.81 ^c
0.25	100	6.29 ^{abcd}	0.53 ^{ab}	1.26 ^{abc}	84.23 ^{ab}
0.50	0	5.39 ^d	0.57 ^{ab}	1.08 ^{bc}	85.78 ^a
0.50	25	5.76 ^{cd}	0.52 ^{ab}	1.24 ^{abc}	84.04 ^{ab}
0.50	50	7.38 ^a	0.63 ^{ab}	1.69 ^a	84.26 ^{ab}
0.50	100	6.32 ^{abcd}	0.62 ^{ab}	1.34 ^{abc}	85.00 ^a
Edáfica	0	5.84 ^a	0.54 ^a	1.25 ^a	82.18 ^b
	0.25	6.28 ^a	0.60 ^a	1.23 ^a	84.74 ^a
	0.50	6.44 ^a	0.59 ^a	1.34 ^a	84.51 ^a
Foliar	0	5.94 ^a	0.53 ^a	1.21 ^a	85.11 ^a
	25	6.07 ^a	0.58 ^a	1.20 ^a	83.09 ^b
	50	6.52 ^a	0.59 ^a	1.32 ^a	82.79 ^b
	100	6.22 ^a	0.59 ^a	1.35 ^a	84.26 ^{ab}

Medias con letra diferente dentro de columna indican diferencias significativas según la prueba DMS ($P \leq 0.01$).

CONCLUSIÓN

La biofortificación del frijol con dosis edáficas de sulfato y foliares de quelato de hierro tiene efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y actividad

antioxidante del frijol. El contenido de hierro y níquel aumento con el incremento de la dosis edáfica o foliar, mientras que en las combinaciones incremento hasta en un 75.91% y un 30.61 el contenido de hierro y níquel, respectivamente con la combinación 0.50 g edáfico – 100 μ M foliar. El contenido de cenizas, proteína, fibra cruda, fenoles totales, flavonoides y antocianinas aumento con respecto al testigo en la mayoría de las combinaciones de hierro edáfico y foliar; mientras que el contenido de grasa disminuyó en las combinaciones edáficas y foliares de hierro. Para la capacidad antioxidante no se observaron diferencias estadísticas entre el testigo y las diferentes combinaciones de hierro edáfico y foliar evaluadas.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Association of Official Analytical Chemist, Oakville, MD, USA.
- Armendáriz-Fernández, K.V., I.M. Herrera-Hernández, E. Muñoz-Márquez and E. Sánchez. 2019. Characterization of bioactive compounds, mineral content, and antioxidant activity in bean varieties grown with traditional methods in Oaxaca, Mexico. *Antioxidants* 8(1):26. Doi: 10.3390/antiox8010026.
- Ates, D., A.T. Kaygisiz., S. Nemli., S. Erdogmus., D. Esiyok and T.M. Bahattin. 2018. Association mapping of days to flowering in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by DArT markers. *Molecular Breeding* 38(113):1-14.
- Blancquaert, D., H. De Steur., X. Gellynck and S.D. Van Der. 2017. Metabolic engineering of micronutrients in crop plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1390: 59–73.
- Brigide, P., S.G. Canniatti-Brazaca, M.O. Silva. 2014. Nutritional characteristics of biofortified common beans. *Food Science and Technology* 34(3):493-500.

- Cakmak, I., W. H. Pfeiffer and B. McClafferty. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry* 87(1):10-20.
- Calvo, N.I.R., H.E. Echeverría y H.S. Rozas. 2008. Comparación de métodos de determinación de nitrógeno y azufre en planta: Implicancia en el diagnóstico de azufre en trigo. *Ciencia del Suelo* 26(2):161–167.
- Chávez-Mendoza, C. and E. Sánchez. 2017. Bioactive Compounds from Mexican Varieties of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for Health. *Molecules* 22: 1360; doi:10.3390/molecules22081360.
- Connorton, J.M., J. Balk and J. Rodríguez-Celma. 2017. Iron homeostasis in plants – a brief overview. *Metallomics* 9(7):813–823.
- De Valença, A.W., A. Bake, I.D. Brouwer and K.E. Giller. 2017. Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security* 12:8-14.
- Finkelstein, J.L., J.D. Haas and S. Mehta. 2017. Iron-biofortified staple food crops for improving iron status: of the current evidence. *Current Opinion in Biotechnology* 44: 138-145.
- Hsu, C.L., W. Chen, Y.M. Weng and C.Y. Tseng. 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry* 83:85-92.
- INIFAP. 2017. Agenda técnica agrícola de Tabasco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ciudad de México. 140p.
- Kok, A.D.X., L.L. Yoon, R. Sekeli, W.C. Yeong, Z.N.B. Yusof and L.K. Song. 2018. Iron biofortification rice: Progress and prespects. In: Farooq Shah, Zafar Hayat Khan, and Amjad Iqbal (ed.) *Rice Crop - Current Developments*. IntechOpen. London, U.K. pp. 25-44.

- Kutman, U.B., B. Yildiz and I. Cakmak. 2011. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant Soil* 342:149-164.
- Lara-Flores, M. 2015. El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria* 16(2):1-11.
- Li, W. and P. Lan. 2017. The understanding of the plant iron deficiency responses in strategy I plants and the role of ethylene in this process by omic approaches. *Frontiers in Plant Science* 8:40. Doi: 10.3389/fpls.2017.00040.
- López, A., P. Cacoub., I.C. Macdougall and L. Peyrin-Biroulet. 2016. Iron deficiency anaemia. *Lancet* 387:907–916.
- Mathesius, U. 2018. Flavonoid functions in plants and their interactions with other organisms. *Plants* 7(2):30. Doi: 10.3390/plants7020030.
- Oomah, B.D., A. Cardador-Martínez and G. Loarca-Piña. 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:935-942.
- Pérez-Pérez, L.M., C.L. Del Toro-Sánchez, E. Sánchez-Chavez, R.I. González-Vega, A. Reyes-Díaz, J. Borboa-Flores, J.M. Soto-Parra y M.A. Flores-Cordova. 2020. Bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México, mediante un sistema gastrointestinal *in vitro*. *Biotecnia* XXII(1):117-125.
- Petry, N., E. Boy, J.P. Wirth and R.F. Hurrell. 2015. Review: The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. *Nutrients* 7(2):1144-1173.

- Rahman, H., S. Sabreen, S. Alam and S. Kawai. 2005. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition* 28(3):393-404.
- Saeid, A. and Jastrzębska, M. 2018. Agronomic biofortification as a key to plant/cereal fortification in micronutrients. *In: Agnieszka Saeid (ed.). Food Biofortification Technologies.* CRC Press. Boca Raton, Florida. pp.1-59.
- Saha, S., B. Mandal, G.C. Hazra, A. Dey, M. Chakraborty, B. Adhikari, S.K. Mukhopadhyay and R. Sadhukhan. 2015. Can agronomic biofortification of zinc be benign for iron in cereals? *Journal of Cereal Science* 65:186-191.
- Salinas, M.Y., H.L. Rojas, M.E. Sosa y H.P. Pérez. 2005. Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia* 39:385–394.
- SAS. 2009. SAS/STAT 9.2 User's Guide. Second Edition. Cary, NC, USA. SAS Institute Inc. 7869p.
- SIAP. 2018. Avance de siembras y cosechas. Resumen nacional por cultivo. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do.
- Sida-Arreola, J.P., E. Sánchez-Chávez, G.D. Ávila-Quezada, P.B. Zamudio-Flores and C.H. Acosta-Muñíz. 2015. Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental* 61(12):573–576.
- Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology and Viticulture* 16(3):144-158.

- Sperotto, R.A. and F.K. Ricachenevsky. 2017. Common bean Fe biofortification using model species' lessons. *Frontiers in Plant Science* 8(2187). doi:10.3389/fpls.2017.02187
- Tosquy, V.O.H., S.E. López., S.B. Villar., G.J.A. Acosta y J.R. Rodríguez-Rodríguez. 2016. Verdín: variedad de frijol negro tolerante a sequía terminal para Veracruz y Chiapas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(7):1775-1780.
- Tosquy-Valle, O.H., López-Salinas, H., Acosta-Gallegos, J.A., y Villar-Sánchez. 2014. Detección de líneas de frijol negro con adaptación en el trópico húmedo del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(6):911-921.
- Wolf, B. 1982. A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosis crop nutrients status. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 13:1035-1059.
- Wrolstad R.E., G. Skrede, P. Lea and G. Enerven. 1990. Anthocyanins and betalains. *In: Natural Food Colorants*, Blackie and Son Ltd., Glasgow. 202p.
- Zhishen J, T. Mengcheng and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4):555-559.

V. CONCLUSIONES GENERALES

En la variedad criolla, la aplicación del hierro incrementó el contenido de hierro, níquel, fenoles totales, humedad, cenizas, proteínas, grasas, fibras, antocianinas y capacidad antioxidante, mientras que el contenido de zinc, cobre, carbohidratos, energía y flavonoides disminuyó. La combinación testigo tuvo el menor contenido de hierro y el mayor contenido de zinc, lo que se debe al efecto antagónico de estos minerales. Las dos combinaciones que presentaron el mayor contenido de hierro en la variedad criolla fueron 0.25 g edáfico - 100 μ M foliar, y 0 g edáfico - 50 μ M foliar. En la variedad verdín, las aplicaciones foliares y edáficas de hierro incrementaron el contenido de hierro, níquel, cenizas, proteínas, fibra cruda, fenoles totales, flavonoides y antocianinas con respecto al testigo. En tanto que el contenido de zinc, potasio y grasas disminuyó; presentando la combinación 0.50 g edáfico - 100 μ M foliar el mayor contenido de hierro.

La biofortificación con hierro tiene efecto en el contenido mineral, composición proximal, compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del grano de frijol en las dos variedades de frijol evaluadas en el presente trabajo. El contenido de hierro de la variedad criolla superaron al testigo hasta un 41.3% con la combinación de 0.25 g edáficos – 100 μ M foliar, mientras que en la variedad verdín el mayor contenido de hierro fue del 75.91% con respecto al testigo en la combinación 0.50 g edáficos - 100 μ M foliar.

VI. ANEXOS

Enter your keywords...



LOGIN (HTTPS://ARCCJOURNALS.COM/LOGIN)



ARCC Journals (Since 1966)

(/)

Submit Manuscript →

(<https://arccjournals.in/onlineSubmissionNew>)

Thank You

Home (<http://arccjournals.com/>) » Thank You

Dear Efraín de la Cruz Lázaro,

Thank you for submitting your manuscript **Edaphic and foliar biofortification of beans (Phaseolus vulgaris L.) with iron** to **Legume Research** with the online journal management system that we are using, your manuscript is forwarded to the processing department now. You will receive official acknowledgement with the reference number within 5 working days.

You are requested to quote reference number in all your future correspondence with regard to the same. If you have any questions or query, please contact us or editor office on given emails on Contact Us Page. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Best Regards
ARCC Journals

Microsoft Outlook Web App

Escribe aquí para re... Todo el buzón

Correo, Calendario, Contactos

Bandeja de entrada (25), Borradores (2), Correo no deseado, Elementos eliminados (336), Elementos enviados

Haz clic para ver todas las carpetas, Administrar carpetas...

Responder, Responder a todos, Reenviar, No deseado, Cerrar

Manuscrito 2014 en Bioagro
Bioagro [bioagro@ucla.edu.ve]

Enviado: martes, 25 de febrero de 2020 09:35 p.m.
Para: EFRAIN DE LA CRUZ LAZARO

Estimado Dr. Efraín de la Cruz Lázaro:

Su manuscrito titulado Biofertilización agrónómica de granos de frijol común (Phaseolus vulgaris L.) con hierro quedó codificado definitivamente con el número 2014. Para cualquier consulta con relación a él deberá hacer mención a ese número.

El tiempo promedio para recibir la evaluación puede variar entre 3 y 4 meses. De todas formas, si para ese período no hubiera recibido respuesta, envíenos una notificación.

Por otra parte, le recordamos que es requisito que el autor de correspondencia mantenga activo su correo electrónico mientras transcurre el proceso de arbitraje.

Atentamente,

Lic. M.S. Aracelys Pereira
Asistente de Edición

Revista Bioagro
Decanato de Agronomía,
Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado
Apartado 400, Barquisimeto, Venezuela
Tlf: +58-251-259.2326 Fax: +58-251-259.2571
e-mail: bioagro@ucla.edu.ve
<https://urlprotection-sjl.global.sonicwall.com/click?PV=1&MSGID=202002260259500047062&URLID=11&FSV=10.0.4.2749&IV=BE7C8AF90FA6F197358BD4AEF7558114&TT=158268600>

Estimado Dr. Efraín de la Cruz Lázaro:

Recibimos su manuscrito el cual quedó codificado provisionalmente con el número 2014. Le informamos que, en caso de aceptación, se solicitará una contribución de USD 15 por página publicada.

Si está de acuerdo, se requiere que provea los nombres de tres especialistas, ajenos a su institución, que pudieran actuar como revisores del manuscrito. La información debe contener el nombre, institución y correo electrónico de cada uno de ellos

Por otra parte, note que si el artículo es aceptado para publicación se necesitará el código Orcid de cada uno de los autores.

Atentamente,

Lic. M.S. Aracelys Pereira

Asistente de Edición

Revista Bioagro

Decanato de Agronomía.

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado

Apartado 400. Barquisimeto, Venezuela

Tlf: +58-251-259.2326 Fax: +58-251-259.2571

e-mail: bioagro@ucla.edu.ve

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.