



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
“Estudio en la duda. Acción en la fe”



**Biofortificación agronómica de *Vigna unguiculata* (L.) Walp
con sulfato de zinc: Influencia en el rendimiento, contenido
mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante**

TESIS

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

PRESENTA

David López Morales

DIRECTOR

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro

CO-DIRECTOR

Dr. Esteban Sánchez Chávez

Villahermosa, Tabasco. Octubre de 2019.



**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-421

Villahermosa, Tabasco, a 21 de octubre de 2019

**C. DAVID LÓPEZ MORALES
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 agronómica de *Vigna unguiculata* (L) Walp con sulfato de zinc: influencia en el rendimiento, contenido mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.**

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 AUTORIZACIÓN

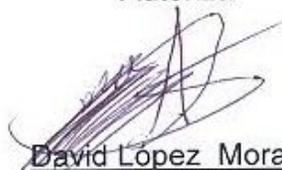
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco que utilice tanto físico como digitalmente la tesis de grado denominada "**Biofortificación agronómica de *Vigna unguiculata* (L.) Walp con sulfato de zinc: Influencia en el rendimiento, contenido mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante**", 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 lucro; 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 antes mencionado, 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 23 días del mes de Octubre del año 2019.

Autoriza



David López Morales

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante el periodo de la maestría.

Al proyecto institucional “Impacto del zinc en los indicadores fisiológicos, contenido mineral y rendimiento del frijol pelón (*Vigna unguiculata* L.)” folio 519 por el apoyo parcial.

Al Dr. Efraín de la Cruz Lázaro como director de tesis, por la acertada dirección en esta presente investigación. Por la motivación, por el apoyo incondicional y por compartir conocimientos que fueron parte esencial para concluir la tesis, pero sobre todo por la sincera amistad que me ha brindado.

Al Dr. Esteban Sánchez Chávez como codirector de tesis, por su apoyo incondicional, por haberme dado la oportunidad de realizar la parte analítica del material vegetal del proyecto, en el laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo, AC unidad Delicias, Chihuahua.

A cada uno de los integrantes del comité revisor: Dr. Eusebio Martínez Moreno[†], Dr. Rufo Sánchez Hernández, Dr. Efraín de Cruz Lázaro, Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores y al Dr. Pedro García Alamilla por realizar la revisión de la tesis, por compartir conocimientos y por guiar este trabajo a buen camino.

A todos los profesores integrantes de la Maestría en Ciencias Agroalimentarias por compartir su valioso conocimiento.

A mis compañeros de generación: Enmanuel, Felson, Jesus Alberto, Karina quienes formaron parte en este arduo camino. A todos mis compañeros integrantes de la Maestría en Ciencias Agroalimentarias con los que compartimos momentos felices.

DEDICATORIAS

A DIOS

Por haberme permitido vivir hasta este día, guiarme a lo largo de mi vida, por permitirme sonreír ante todos mis logros que son resultados de tu ayuda. Por haberme dado fortaleza para seguir adelante y terminar una escala más en mis estudios, pero sobre todo por haberme dado una gran familia.

A MIS PADRES

En especial a mi madre Francisca Morales Cruz que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en momentos más difíciles. A ambos por formar parte de mi vida, sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer una vida de lucha, sacrificio y esfuerzo constante; solo deo que entiendan que el logro mío es logro suyo; que el esfuerzo está inspirado en ustedes y que el único ideal es ser una persona de provecho, excelente profesionista y como ser humano.

A MIS HERMANOS

A todos mis hermanos Amalia López Morales, José del Carmen López Morales y Juvencio López Morales por su apoyo incondicional y comprensión, me acompañaron en todo momento, muchas veces poniéndose en el papel de padres y sin ellos hubiera sido difícil realizar mis estudios. A los demás por sus ánimos que nunca faltaron y compartir conmigo buenos y malos momentos.

A MI ESPOSA

Azalia Correa Méndez por formar parte importante en mi vida. Por tu amor, apoyo, comprensión, consejos, por sus palabras de aliento y sobre todo por estar siempre a mi lado en momentos buenos y momentos difíciles en esta trayectoria de la maestría. Te amo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
2.3 Hipótesis	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1 Biofortificación con micronutrientes en los cultivos agrícolas	4
3.2 Biofortificación edáfica y foliar con zinc	5
3.3 Química del zinc	5
3.4 El zinc en el suelo	6
3.5 Factores que afectan la absorción del zinc en las plantas	6
3.6 Absorción y transporte del zinc en las plantas	7
3.7 Importancia del zinc en las plantas y humanos	8
3.7.1 Importancia del zinc en las plantas	8
3.7.2 Importancia del zinc en los seres humanos	9
3.8 Efecto del zinc en el rendimiento y contenido mineral	10
3.9 Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante	10
3.10 Importancia del frijol pelón	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS	12
4.1 Localización del área de estudio	12
4.2 Análisis de suelo	12
4.3 Establecimiento del cultivo	13

4.4	Tratamientos.....	13
4.5	Colecta y preparación de muestras para análisis.....	14
4.5.1	Preparación de muestras de ejotes	14
4.5.2	Cosecha y preparación de granos secos	14
4.6	Determinación del rendimiento y evaluación de variables en ejotes y granos secos	15
4.6.1	Rendimiento y componentes del rendimiento.....	15
4.6.2	Análisis de la composición proximal de ejotes y granos secos .	15
4.6.3	Contenido mineral de granos secos.....	17
4.6.4	Capacidad antioxidante en ejotes y granos secos	17
4.6.5	Compuestos bioactivos en ejotes y granos secos.....	18
4.7	Diseño experimental y análisis estadístico de datos.....	19
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
5.1	Propiedades físicas y químicas del sitio de siembra del experimento.....	20
5.2	Composición proximal de ejotes.....	21
5.3	Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ejote.....	25
5.4	Rendimiento y componentes del rendimiento de granos secos de frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc.....	28
5.5	Composición proximal de granos secos de frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc	30
5.6	Contenido mineral de granos secos.....	34
5.7	Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos secos.....	38
6.	CONCLUSIÓN.....	41
7.	LITERATURA CITADA.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Propiedades físicas y químicas del suelo del sitio de siembra del experimento de frijol caupí (<i>V. unguiculata</i>).....	19
Cuadro 2.	Composición físicas y químicas de granos y valvas verdes de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc.....	23
Cuadro 3.	Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en granos y valvas verdes de frijol pelón en respuesta a la aplicación de diferentes dosis de sulfato de zinc.....	26
Cuadro 4.	Rendimiento y componentes de rendimiento de grano de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis de sulfato de zinc.....	28
Cuadro 5.	Propiedades físicas y químicas en granos de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis de sulfato de zinc.....	32
Cuadro 6.	Concentración de macro y micronutrientes en granos de frijol caupí biofortificado con diferentes dosis de sulfato de zinc.....	36
Cuadro 7.	Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en granos de frijol Caupí biofortificados con diferentes dosis de sulfato de zinc.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Valores semanales de la precipitación y temperatura durante el ciclo del cultivo de frijol pelón. Las flechas indican las fechas de aplicación de zinc.....	11
---	----

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

RESUMEN

La deficiencia en la ingesta de zinc es un problema de salud pública, por lo que el incremento de este micronutriente en la parte comestible de la planta puede ayudar en la mitigación de este problema. Por lo que los esfuerzos se están centrando en el incremento del zinc en los granos de las leguminosas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la aplicación edáfica y foliar de sulfato de zinc sobre la composición proximal y el contenido de compuestos bioactivos de ejotes; además del rendimiento, composición proximal, contenido mineral y compuestos bioactivos de granos secos de frijol pelón *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Se evaluaron 16 tratamientos, provenientes de un arreglo factorial 4x4, en donde el primer factor fueron las dosis edáficas (0.0, 0.125, 0.250, 0.500 g planta⁻¹) y el segundo factor las dosis foliares (0.0, 12.5, 25.0 y 50.0 mM L⁻¹) de sulfato de zinc, que se aplicaron a los 30, 45, 60 y 75 días después de la siembra (dds). A los 79 dds se cosecharon los ejotes, que se separaron en valvas y granos para determinar el contenido de cenizas, grasas, fibras, carbohidratos, proteína, energía, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante. Mientras que en los granos secos se determinó el rendimiento de granos por planta (RGP), largo, ancho, grosor y peso de 100 granos (P100), contenido de cenizas, grasas, fibras, carbohidratos, proteína, energía, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, sodio, manganeso, cobre, hierro, zinc, níquel, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante. Con la dosis de 0.250 g edáficos – 50.0 mM foliar se tuvo el mayor contenido de proteína y fenoles totales en los granos de los ejotes. Con respecto al RGP y componentes del rendimiento de los granos secos se observa efecto del sulfato de zinc, presentando el mayor RGP la dosis 0.500 g edáfico – 0.0 mM foliar. En los granos secos la dosis 0.250 g edáfico – 25.0 mM foliar tuvo el mayor contenido de proteína, cenizas, fibras, energía y nitrógeno. En lo referente al contenido de zinc se observó que todas las dosis de sulfato de zinc edáfico y foliar incrementaron su contenido, presentando el mayor contenido de zinc la dosis 0.125 g edáfico – 50.0 mM

foliar. Para el contenido de fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante se observó que algunas dosis tuvieron contenidos superiores que el testigo, pero otras mostraron menores contenidos, de forma general se observó que la dosis de 0.125 g edáfico incrementa el contenido de fenoles totales y antocianinas, mientras que la dosis de 50.0 mM foliar presenta los mayores contenidos de flavonoides y capacidad antioxidante, presentando la mayor capacidad antioxidante la dosis de 0.0 g edáfico – 50 mM foliar. En general, se observa que la aplicación edáfica y foliar de sulfato de zinc tiene efecto en la composición proximal y de compuestos bioactivos de los ejotes, así como, en el rendimiento, componentes del rendimiento, composición proximal, contenido mineral y compuestos bioactivos de los granos secos de frijol pelón.

Palabras clave: Biofortificación agronómica, *Vigna unguiculata*, sulfato de zinc, minerales, antioxidantes, composición proximal.

ABSTRACT

The deficiency in zinc intake is a public health problem, so the increase of this micronutrient in the edible part of the plant can help in mitigate this problem. Efforts are focusing on increasing zinc in the grains legumes. The objective of the present work was to determine the effect of the edaphic and foliar application of zinc sulfate on the proximal composition and the content of bioactive compounds of green pods; in addition to the yield, proximal composition, mineral content and bioactive compounds of beans *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Sixteen treatments were evaluated, coming from a 4x4 factorial arrangement, where the first factor were the edaphic doses (0.0, 0.125, 0.250, 0.500 g plant⁻¹) and the second factor were the foliar doses (0.0, 12.5, 25.0 and 50.0 mM L⁻¹) of zinc sulfate, which were applied at 30, 45, 60 and 75 days after sowing (das). At 79 das the green beans were harvested and separated into leaflets and grains to determine ash, fat, fibre, carbohydrate, protein, energy, total phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity. While in dry grains was determined the yield of grains per plant (YGP), length, width, thickness and weight of 100 grains (W100), ash content, fat, fiber, carbohydrates, protein, energy, nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium, manganese, copper, iron, zinc, nickel, total phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity. With the dose of 0.250 g edaphic - 50.0 mM foliar the highest content of protein and total phenols was had in the grains of the green beans. With respect to the YGP and components of the yield of dry grains is observed effect of zinc sulfate, presenting the highest YGP dose 0.500 g edaphic - 0.0 mM foliar. In dry grains the dose 0.250 g edaphic - 25.0 mM foliar had the highest content of protein, ashes, fibers, energy and nitrogen. Regarding zinc content, it was observed that all doses of edaphic and foliar zinc sulfate increased their content, with the highest zinc content being 0.125 g edaphic - 50.0 mM foliar. For the content of total phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity it was observed that some doses had higher contents than the control, but others showed lower contents,

in general it is observed that the dose of 0.125 g edaphic increases the content of total phenols and anthocyanins, while the dose of 50.0 mM foliar presents the highest flavonoid content and antioxidant capacity, presenting the highest antioxidant capacity the dose of 0.0 g edaphic - 50 mM foliar. In general, it is observed that the edaphic and foliar application of zinc sulfate has an effect on the proximal composition and bioactive compounds of green beans, as well as on the yield, yield components, proximal composition, mineral content and bioactive compounds of dry bean beans.

Key words: Agronomic biofortification, *Vigna unguiculata*, zinc sulphate, minerals, antioxidants, proximal composition.

1. INTRODUCCIÓN

Las leguminosas representan el segundo grupo de plantas en importancia como fuente de carbohidratos y proteínas en la dieta de las personas. Dentro de este grupo de plantas se encuentra el frijol pelón *Vigna unguiculata* (L.) Walp, que pertenece al orden Rosales y familia Fabaceae (Meena *et al.*, 2015). Del que se consumen sus granos secos, las vainas inmaduras y las guías tiernas para la alimentación humana (García *et al.*, 2005). Además de que la planta completa se utiliza como cobertera, abono verde (Beltrán *et al.*, 2009), y como ensilaje para la alimentación animal (Corea *et al.*, 2017).

Su importancia como cultivo radica en su adaptabilidad y tolerancia a la sequía, además de que desde el punto de vista nutritivo tiene contenidos de proteína entre 18 y 35%, carbohidratos entre 50 y 65%, fibra entre 10 y 20%, además de aminoácidos que complementan a los cereales; lo que hace que sea un alimento potencialmente importante en la dieta humana (Ragab *et al.*, 2004; Miquilena e Higuera, 2012). En contraste tiene bajos contenidos de minerales esenciales como el zinc, por lo que para mejorar su valor nutritivo se emplea la biofortificación; técnica que tiene como objetivo mejorar las características agronómicas e incrementar el contenido de minerales esenciales en las partes comestibles de las plantas, por medio de la aplicación de forma edáfica y/o foliar (Gomathi *et al.*, 2017; Sharma *et al.*, 2017).

El zinc es un microelemento esencial en los sistemas biológicos que se requieren en pequeñas cantidades. La deficiencia de este microelemento en la ingesta de las personas constituye un problema de salud pública (Cakmak *et al.*, 2017). También es un elemento esencial en las plantas, como cofactor de aproximadamente 300 enzimas, participa en el metabolismo, la fertilidad y la producción de semillas; además de regular el crecimiento, la defensa contra enfermedades y la formación de clorofila (Hänsch y Mendel, 2009). Por lo que la biofortificación edáfica y foliar con zinc es una solución efectiva a los problemas de deficiencia en la salud humana y la producción de cultivos (Sida-Arreola *et al.*, 2017). Al respecto, se reporta que la biofortificación con zinc, incrementa

74.6% la presencia de este mineral en el grano de *Phaseolus vulgaris* y un 60% la capacidad antioxidante, además de reducir el contenido de antinutrientes (Sida-Arreola *et al.*, 2017). Mientras que para frijol pelón se reporta que el zinc tiene efecto en el rendimiento de grano, contenido mineral y capacidad antioxidante cuando se aplica de forma edáfico y/o foliar de forma simultanea (Guillén-Molina *et al.*, 2016; Estrada-Domínguez *et al.*, 2018).

Debido a que se tienen pocos estudios sobre biofortificación con zinc en este cultivo el presente trabajo generará información para conocer el efecto del zinc sobre el ejote y granos secos de frijol pelón. El objetivo del presente trabajo fue conocer el efecto del zinc sobre la composición proximal, los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ejotes, así como el rendimiento, composición proximal, contenido mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidantes de los granos secos de frijol pelón.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la aplicación edáfica y foliar del sulfato de zinc sobre la composición proximal y el contenido de compuestos bioactivos de ejotes; además del rendimiento, composición proximal, contenido mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los granos secos de frijol pelón *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

2.2 Objetivos específicos

- 1.- Determinar la influencia de la dosis edáfica y foliar del sulfato de zinc sobre el rendimiento y los componentes del rendimiento de granos secos.
- 2.- Determinar el efecto de la dosis edáfica y foliar del sulfato de zinc sobre la composición proximal de ejotes y granos secos.
- 3.- Conocer el efecto de dosis edáfica y foliar del sulfato de zinc sobre el contenido mineral (macro y micronutrientes) de granos secos.
- 4.- Determinar el efecto de la dosis edáfica y foliar del sulfato de zinc sobre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de ejotes y granos secos del frijol pelón.

2.3 Hipótesis

La aplicación de diferentes dosis edáficas y foliares del sulfato de zinc afecta el rendimiento, los componentes del rendimiento, contenido mineral, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del grano de frijol y la composición proximal de ejotes de frijol pelón *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Biofortificación con micronutrientes en los cultivos agrícolas

La biofortificación es una alternativa viable que tiene como objetivo mejorar las características agronómicas, además de incrementar el contenido de microelementos y vitaminas en los cultivos mediante técnicas de fertilización, fitomejoramiento tradicional o biotecnología (Gomathi *et al.*, 2017; Welch y Graham, 2005). Además, es una alternativa útil combatir la deficiencia de microelementos esenciales como el zinc y el hierro en los seres humanos y animales (Sida-Arreola *et al.*, 2015a). Las primeras investigaciones sobre biofortificación con hierro y zinc se realizaron en el cultivo de maíz, donde se observó un aumento considerable en las concentraciones de estos microelementos en el grano de distintas variedades (Gomathi *et al.*, 2017). De igual manera, se han documentado diversos trabajos de investigación acerca de la biofortificación por intervención agronómica como los reportados por Cakmak (2008), quien trabajó con el enriquecimiento del trigo con zinc.

La biofortificación edáfica y foliar con zinc es una solución efectiva para mitigar los problemas de deficiencia de este microelemento (Sida-Arreola *et al.*, 2017). Los reportes de biofortificación con zinc indican que se incrementa el contenido su contenido en las partes comestibles de cultivos como *Solanum tuberosum* L. (White *et al.*, 2017), *Oryza sativa* L. (Tuyogon *et al.*, 2016), *Triticum aestivum* L. (Cakmak, 2008), *Zea mays* L. (Potarzycki *et al.*, 2015), *Allium cepa* L. (Manna y Maity, 2016) y *Carthamus tinctorius* L. (Movahhedy *et al.*, 2009). Con reportes de que la concentración de zinc en el grano de arroz se incrementa hasta 28 mg kg⁻¹ de materia seca (MS), en trigo hasta 38 mg kg⁻¹ MS, en maíz hasta 38 mg kg⁻¹ MS, en sorgo hasta 66 mg kg⁻¹ MS, en frijol hasta 56 mg kg⁻¹ MS, en yuca hasta 34 mg kg⁻¹ MS y en papa hasta 70 mg kg⁻¹ MS (Bouis y Welch, 2010).

3.2 Biofortificación edáfica y foliar con zinc

La aplicación del zinc en los cultivos se realiza de forma edáfica y foliar, o de forma combinada. Se ha documentado que la aplicación foliar es efectiva para aumentar la concentración de zinc en cereales y leguminosas cultivadas en suelos deficientes de este microelemento (Poblaciones y Rengel, 2017). Al respecto, varios estudios reportan que la aplicación edáfica es menos efectiva que la aplicación foliar, para incrementar el contenido de zinc en el grano de arroz, cebada, sorgo y algunas leguminosas (Cakmak *et al.*, 2010). Ya que la aplicación por vía foliar, es la que tiene los mayores incrementos de zinc y de rendimiento de grano de leguminosas (Ibrahim y Ramadan, 2015; Prasad *et al.*, 2010).

Sobre lo anterior, Cakmak (2008) reporta que la combinación de la aplicación edáfica y foliar de forma simultánea, es el método más efectivo para incrementar el contenido de zinc en el grano de cereales y leguminosas. Sobre la biofortificación de *V. unguiculata* con zinc se reportan incrementos de la concentración en el grano hasta 56.9 ppm de zinc en el grano al biofortificar de forma edáfica (Guillén-Molina *et al.*, 2016), mientras que con la biofortificación edáfica y foliar de forma simultánea se reportan incrementos de hasta 72 ppm de zinc en el grano (Estrada-Domínguez *et al.*, 2018), bajo condiciones de invernadero con sustrato inerte.

3.3 Química del zinc

El zinc (del alemán *Zink*) fue descubierto en 1746 por Andreas Marggraf, es un metal de transición con número atómico de 30 y masa de 65.38, ocupa el 23º lugar en abundancia en la tierra, y en la naturaleza se encuentra en forma de sulfuro, carbonato o silicato de color blanco brillante (Broadley *et al.*, 2007). Tiene cinco isótopos estables: ^{64}Zn (48.63%), ^{66}Zn (27.90%), ^{67}Zn (4.90%), ^{68}Zn (18.75%) y ^{70}Zn (0.62%). Es el único metal involucrado en seis clases de enzimas: oxido-reductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas (Weiss *et al.*, 2005). Forma numerosas sales solubles, incluyendo haluros, sulfatos, nitratos, formiatos, acetatos, tiocianatos, percloratos,

fluosilicatos, cianuros, zincatos de metales alcalinos y sales de Zn-amoniaco; así como complejos orgánicos en forma solubles e insolubles (Barak y Helmke, 1993).

3.4 El zinc en el suelo

Se estima que alrededor de un tercio de los suelos de todo el mundo son deficientes de zinc disponible para las plantas, lo que provoca bajos rendimientos y calidad nutricional de los cultivos cosechados en estos suelos (Alloway, 2008; Cakmak, 2008). Sobre la concentración del zinc total en los suelos se reporta que en promedio es de 55 mg kg^{-1} , con rango de 10 a 300 mg kg^{-1} , siendo los suelos de calamina los que contienen las mayores concentraciones (Alloway, 2008).

Las formas en que el zinc se encuentra disponible para la planta en los suelos, es en la forma de iones libres (Zn^{2+} y ZnOH^+), en complejos orgánicos solubles y como zinc lábil (se absorbe fácilmente). Las concentraciones de zinc en la solución del suelo son normalmente bajas (4 a $270 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) en comparación con las concentraciones totales promedio de alrededor de $64 \text{ mg de Zn kg}^{-1}$ (Alloway, 2009). Pero en suelos muy ácidos, se reportan concentraciones solubles de $7137 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (Kabata-Pendias, 2001).

3.5 Factores que afectan la absorción del zinc en las plantas

El zinc disponible para las plantas se puede encontrar en la solución del suelo o de forma lábil (Alloway, 2009). Dentro de los principales factores del suelo que afectan la disponibilidad del zinc en las plantas son aquellos que controlan la cantidad del zinc presentes en la solución del suelo. Estos factores son: bajos contenidos de zinc total, alto pH, alto contenido de calcita y materia orgánica, contenido de carbonato de calcio, las condiciones redox, las condiciones del clima, la humedad del suelo, altas concentraciones de sodio, calcio, magnesio, bicarbonato y fosfato (Broadley *et al.*, 2007; Alloway, 2008). También el tiempo de aplicación del zinc a nivel foliar y las diferentes tipos de

fertilizantes a base de zinc también influyen en la concentración de zinc en el grano (Wei *et al.*, 2012).

Algunas posibles explicaciones de la variación de la eficiencia del zinc y otros microminerales, entre las plantas se incluyen: diferencias en el volumen y la longitud de las raíces, presencia o ausencia de raíces proteoides o racimos, cambios en el pH de la rizosfera, aumento de la absorción a través de micorrizas arbusculares (hongos simbióticos en la rizosfera), liberación de exudados de la raíz, como fitosideróforos y ácidos orgánicos, eficiencia de la utilización del zinc una vez absorbido por la planta, reciclaje de elementos dentro de los tejidos de la planta en crecimiento y la tolerancia a factores inhibidores como los iones de bicarbonato (Alloway, 2009).

3.6 Absorción y transporte del zinc en las plantas

El zinc se absorbe por las raíces y por la epidermis foliar como Zn^{2+} (Hacisalihoglu y Kochian, 2003), pasando primero por el espacio libre de la pared de la célula de la raíz por difusión, para luego moverse por la membrana plasmática por acción de las proteínas de transporte de iones (White y Broadley, 2009). Lo que provoca, el incremento de su concentración en la planta, además de la redistribución efectiva y la acumulación en el tejido comestible (Welch y Graham, 2005). También estudios sobre biofortificación con zinc en arroz mencionan que la epidermis de las hojas pueden absorber el zinc, al aplicarse por aspersión dirigida al follaje de las plantas, además de que se moviliza y transfiere a los granos a través del floema por medio de los transportadores de zinc que regulan este proceso (Wei *et al.*, 2012). El principal factor que disminuye la absorción del zinc en las plantas, se debe a que la absorción y transporte del zinc dentro de la planta, de las raíces hasta los brotes se inhibe por las altas concentraciones de bicarbonato de 15 a 40 mM (Alloway, 2009).

3.7 Importancia del zinc en las plantas y humanos

El zinc es un micronutriente esencial para todos los organismos vivos, involucrado en varios procesos fisiológicos de la planta, como el crecimiento, el desarrollo y la inmunidad (Chattha *et al.*, 2017). Es importante como componente de enzimas que intervienen en la síntesis de proteínas, la producción de energía y mantiene la integridad estructural de las biomembranas (Hänsch y Mendel, 2009). También es necesario para el crecimiento y el desarrollo de los seres humanos, animales y plantas (Hafeez *et al.*, 2013).

3.7.1 Importancia del zinc en las plantas

El zinc tiene la función de la desintoxicación de los radicales superóxidos, la integridad de la membrana, la síntesis de proteínas y la formación del ácido indolacético (Broadley *et al.*, 2012). Interviene en la formación de azúcares y en los factores de transcripción (Hershinkel, 2005), debido a su tendencia a formar enlaces con el nitrógeno (N), oxígeno (O) y azufre (S) (Broadley *et al.*, 2007). También está involucrado en la síntesis y mantenimiento de ADN y ARN (Kramer y Clemens, 2005). Mientras que en los cloroplastos, tiene la función de reparar el fotosistema II (Luciano *et al.*, 1998); el citoplasma, los lisosomas y el espacio apoplásto (Hänsch y Mendel, 2009).

También desempeña un papel importante como cofactor de más de 300 enzimas, como la superóxido de Cu/Zn (Cu/Zn-SOD), anhidrasa carbónica (CA) y sorbitol deshidrogenasa (SDH), así como en la fertilidad, la producción de semillas, la regulación del crecimiento, la defensa contra enfermedades y la formación de clorofila (Prasad, 2010). Además, participa en la fotosíntesis, el metabolismo de carbohidratos y la regulación de fitohormonas (Broadley *et al.*, 2007). Se encuentra formando parte de cientos de proteínas requeridas por la planta, para sus procesos regulatorios de iones y funciones estructurales. Al respecto, Kramer y Clemens (2005) indican que es transportado por alrededor de 1200 proteínas como catión divalente (Zn^{2+}). También se encuentra implicado en la síntesis del triptófano y estimula diversas actividades enzimáticas, el metabolismo del nitrógeno y la formación de flavonoides (Gárate

y Bonilla, 2013). Además de que se encuentra involucrado en muchas funciones fisiológicas, por lo que la deficiencia de este mineral reduce el rendimiento y la calidad de los cultivos (Hafeez *et al.*, 2013).

3.7.2 Importancia del zinc en los seres humanos

Los seres humanos requieren alrededor de 20 minerales esenciales para su desarrollo óptimo (Sida-Arreola *et al.*, 2015a). Siendo uno de estos el zinc, el cual se requiere en funciones bioquímicas y hormonales como la modulación de la secreción de la prolactina y la insulina (Torres y Bahr, 2004). También interviene en la respiración celular, la síntesis del ADN y ARN, el mantenimiento de la membrana celular, la eliminación de radicales libres, la síntesis y degradación de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Rubio *et al.*, 2007).

En los niños interviene en el desarrollo intelectual, y en los adolescentes acelera el crecimiento (Yin *et al.*, 2012). Además, es importante para la salud y nutrición humana, se encuentra en mayor concentración en el hígado, páncreas, riñones, huesos y músculos (Hambidge, 2000). A pesar de los suministros de alimentos en el mundo, la ingesta de este elemento está entre los cinco principales factores de deficiencias de micronutrientes, presente de forma frecuente en los países en vías de desarrollo (Cakmak *et al.*, 2017; Manzeke *et al.*, 2017).

La deficiencia de este elemento está presente en la población que padece malnutrición de micronutrientes, se estima que el 30% de la población tiene deficiencia de zinc (WHO, 2002). Los niños con deficiencia de zin presentan anemia, desnutrición y otras enfermedades, mismas que están relacionadas con la falta de micronutrientes como minerales y vitaminas (Hotz y Brown, 2004). La recomendación de consumo diario de zinc en humanos es de 3 a 16 mg día⁻¹, dependiendo de la edad y el sexo de la persona (WHO, 2002; Alloway, 2009); un hombre en promedio necesita 11 mg día⁻¹, mientras que una mujer necesita 9 mg día⁻¹ (WHO, 2002; Hotz y Brown, 2004).

3.8 Efecto del zinc en el rendimiento y contenido mineral

La biofortificación edáfica y foliar con zinc en los cultivos juega un papel importante en el rendimiento y contenido mineral de los granos de cereales y leguminosas (Cakmak *et al.*, 2010). La deficiencia de zinc en los cultivos no solo reduce el rendimiento de grano, si no que también obstaculiza la calidad nutricional (Cakmak *et al.*, 2017). Algunos estudios mencionan que la aplicación edáfica y foliar de fertilizantes a base de zinc incrementa las concentraciones de zinc en los tejidos del floema en frutos, semillas y tubérculos (White *et al.*, 2017; Cakmak *et al.*, 2010). Sobre lo mismo, Quddus *et al.* (2011) indican que el rendimiento se incrementa cuando las plantas de los cultivos son fertilizados con zinc, del mismo modo Sida-Arreola *et al.* (2015b) reportan que la aplicación de una dosis adecuada de zinc incrementa la biomasa y el rendimiento de grano del frijol.

3.9 Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

Los compuestos bioactivos son compuestos esenciales y no esenciales que se producen en la naturaleza. Al respecto, Cárdenas *et al.* (2014) indican que los compuestos bioactivos son metabolitos secundarios no nutricionales de origen vegetal vitales para el mantenimiento de la salud humana. Al respecto, se sabe que los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios en las plantas, derivados de la fenilalanina. Las plantas y los alimentos contienen una gran cantidad de fenoles, incluyendo fenoles simples, fenilpropanoides, derivados del ácido benzoico, flavonoides, estilbenos, taninos, lignanos y ligninas, suberina y cutina (Awika y Duodu, 2017). Estos compuestos son esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, actúan como antipatógenos, contribuyen a la pigmentación y son atractivos de polinizadores. Además, pueden proteger a las plantas de la luz UV y son antioxidantes naturales. También tienen actividad antimutagénica y anticancerígena, y juegan un papel importante en la salud, ya que se asocian con la reducción de enfermedades crónico-degenerativas (Rui, 2004).

La capacidad antioxidante de los alimentos está determinada por una mezcla de compuestos antioxidantes con diferentes mecanismos de acción (Cárdenas *et al.*, 2014). Debido a la diversidad química de los compuestos antioxidantes presentes en los alimentos, los niveles de antioxidantes individuales en los alimentos no reflejan su capacidad antioxidante total; lo que también depende de las interacciones sinérgicas entre las diferentes moléculas presentes en los alimentos (Pellegroni *et al.*, 2003). Al respecto, se sabe que los compuestos fenólicos de las leguminosas exhiben fuertes propiedades antioxidantes y antimutagénicas (Oomah *et al.*, 2005).

3.10 Importancia del frijol pelón

El consumo de leguminosas ha aumentado en los últimos años, debido al aporte de carbohidratos, fibra dietaria, proteínas, vitaminas, nutrimentos esenciales y fitoquímicos que aporta a la dieta humana (Ragab *et al.*, 2004; Awika y Duodu, 2017). Del frijol pelón se consumen los granos secos, las vainas inmaduras y las guías tiernas para la alimentación humana (García *et al.*, 2005). También se usa como cobertera y abono verde (Beltrán *et al.*, 2009), además la planta completa se usa para ensilaje y heno para la alimentación de animales (Corea *et al.*, 2017). Su importancia radica en que es un cultivo versátil, adaptable y nutritivo, con alto contenido de proteína (Ramakrishnan *et al.*, 2005). En los países en desarrollo se incluye en la dieta de la población como sustituto del frijol común (Carnovale *et al.*, 1991), con contenidos de proteína entre 18 y 35%, carbohidratos entre 50 y 65%, fibra entre 10 y 20%, además de aminoácidos que complementan a los cereales; lo que hace que sea un alimento importante (Ragab *et al.*, 2004; Miquilena e Higuera, 2012).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del área de estudio

El experimento se realizó en la Ranchería Chipilinar 2da Sección, ubicada en el municipio de Jalapa, Tabasco, México, a los 17° 47.614' LN y 92° 47.764' LO. La localidad tiene un clima cálido húmedo Af (m)w" (i)g de acuerdo con la clasificación climática de Köppen, con lluvias durante todo el año (García, 1998). La temperatura media anual es de 26.3 °C, presentando las mayores temperaturas el mes de mayo y las mínimas en enero. La precipitación media anual es de 2606 mm con promedio mensual de 389 mm en septiembre y mínimo de 88 mm en abril (CONAGUA, 2017). Durante el ciclo del cultivo se tuvieron temperaturas máximas y mínimas promedio de 39 y 19 °C, respectivamente; con precipitación total de 185 mm (Figura 1).

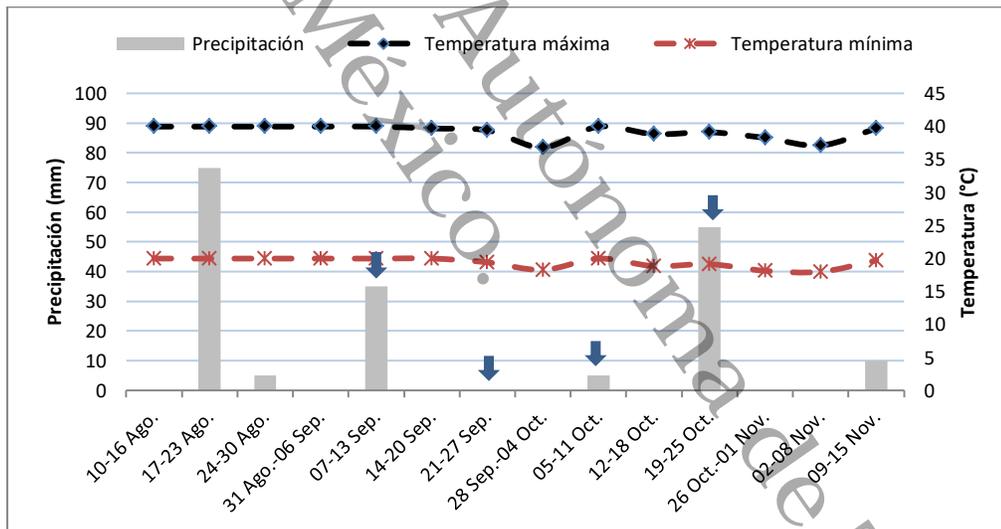


Figura 1. Valores semanales de la precipitación y temperatura durante el ciclo del cultivo de frijol pelón. Las flechas indican las fechas de aplicación de zinc.

4.2 Análisis de suelo

Antes de establecer el cultivo se colectó una muestra compuesta de suelo por el método de Zig Zag con una barrena tipo holandesa de 20 cm de profundidad. La muestra de suelo se trasladó al Laboratorio de Suelos y Plantas

de la División Académica de Ciencias Agropecuarias en donde se determinaron las siguientes propiedades físicas y químicas: contenido de arena, limo, arcilla, textura y densidad aparente, pH, CE, contenido de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, sodio, hierro, zinc, manganeso y cobre de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-21-SEMARNAT-2000)

4.3 Establecimiento del cultivo

Se utilizó semilla de frijol pelón *Vigna unguiculata* (L.) Walp criolla que utilizan los productores de la región, con ciclo de alrededor de 120 días con grano color beige claro a blanco. La siembra se realizó el 10 de agosto de 2018 bajo condiciones de temporal, depositando cuatro semillas por golpe, para 15 días después de la siembra (dds) realizar el aclareo a dos plantas. La siembra se realizó bajo una distribución de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, en donde cada unidad experimental estuvo constituida por una superficie de 4.8 m².

4.4 Tratamientos

Los tratamientos se generaron bajo un arreglo factorial con cuatro dosis edáficas (0.0, 0.125, 0.250, 0.500 g planta⁻¹) y cuatro dosis foliares (0.0, 12.5, 25.0 y 50.0 mM L⁻¹) de sulfato de zinc, lo que generó 16 tratamientos con cuatro repeticiones por tratamiento, las dosis se aplicaron a los 30, 45, 60 y 75 dds.

Las aplicaciones edáficas se aplicaron de las 16:00 a 18:00 horas depositando la dosis a profundidad de 5 cm del suelo y distancia de 5 cm del tallo de la planta; mientras que las aplicaciones foliares se realizaron de 7:00 a 8:00 horas por medio aspersion de la dosis en el haz y envés de las hojas hasta punto de rocío. Tanto las dosis edáficas como las dosis foliares se aplicaron el mismo día.

4.5 Colecta y preparación de muestras para análisis

4.5.1 Preparación de muestras de ejotes

La colecta de las vainas verdes o ejotes se realizó a los 79 dds, colectando seis vainas por unidad experimental, para luego ponerlas en refrigeración a temperatura de 5 °C y transportarlas al laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Delicias, en la Ciudad de Delicias, Chihuahua. Las vainas verdes de cada unidad experimental se disectaron en semillas y valvas, que se dividieron en dos partes, la primera parte se utilizó para determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante. Mientras que la segunda muestra se secó en una estufa (SL SHEL LAB) a 70 °C por 24 h, para luego moler en un molino marca Krups Modelo GX4100, la molienda se colocó en bolsas ziploc y se guardó en un lugar oscuro a temperatura ambiente para luego determinar el contenido de cenizas, grasas, fibras, proteína, carbohidratos y energía.

4.5.2 Cosecha y preparación de granos secos

La cosecha de los granos secos se realizó a los 95 dds cuando tenían una humedad promedio de 11.72%. De cada unidad experimental se tomaron 100 semillas que se molieron en un molino marca Krups Modelo GX4100, para luego colocar el resultado de la molienda en bolsas ziploc y conservar en oscuridad a temperatura ambiente hasta su uso en la determinación del contenido de cenizas, grasas, fibras, proteína, carbohidratos, energía, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro, zinc, manganeso, cobre, níquel, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante.

4.6 Determinación del rendimiento y evaluación de variables en ejotes y granos secos

4.6.1 Rendimiento y componentes del rendimiento

Para determinar el rendimiento de grano por planta, se sumaron los pesos individuales de los granos de todas las vainas cosechadas por planta durante los 95 días que duro el experimento. En los granos cosechados de cada unidad experimental se midió el ancho, largo y grosor en milímetros con un vernier electrónico (STEREN) en 50 semillas tomadas al azar. Mientras que el peso de grano se determinó con una balanza granataria (Ohaus Scout® Pro) modelo H-2710 con precisión de ± 0.1 g, en la que se colocaron 100 semillas en una caja Petri, para luego reportar el peso de 100 granos en gramos.

4.6.2 Análisis de la composición proximal de ejotes y granos secos

La determinación de cenizas se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NMX-F-066-S-1978). Para lo cual se colocó una muestra de 1 g en un crisol a peso constante de cada tratamiento y repetición, para luego introducir en una mufla (Felisa®) a 600 °C durante 24 horas hasta alcanzar la calcinación. Los resultados de cenizas se reportan en porcentaje y se estimaron de la siguiente manera:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(P - p) \times 100}{M}$$

Donde: P = masa del crisol con ceniza en gramos, p = masa del crisol vacío y M = masa de la muestra en gramos.

El contenido de grasa se determinó de acuerdo a la AOAC, (2002). Para lo cual se prepararon matraces de vidrios y se secaron en una estufa hasta peso constante. Posteriormente, se instaló el equipo extractor de grasa LABCONCO® y se colocó la muestra en papel filtro para luego tapar con algodón. A los matraces se les añadió éter de petróleo como solvente, dejando a reflujo por 2 horas y media. Finalizada la extracción, el solvente se recuperó por medio de destilación reteniendo solo la grasa en el matraz. Se pesó el matraz con el residuo y se determinó el porcentaje de grasa.

La muestra desengrasada de cada muestra se pesó y transfirió a vasos para fibras a los que se le agregaron 200 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1.25% y 1 ml de alcohol isoamílico como antiespumante, dejando hervir la mezcla por 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se lavaron para eliminar los residuos de H_2SO_4 , alcohol isoamílico y neutralizar la mezcla. Para luego añadir 200 ml de hidróxido de sodio (NaOH) al 1.25% y hervir por 30 minutos, al término del tiempo se lavaron con fibra de vidrio hasta llegar a neutralidad. La fibra de vidrio con la muestra se colocó en una capsula, que se introdujo en una estufa y dejó secar por 12 h. Concluido el tiempo se pesó la cápsula con la fibra de vidrio y la muestra. Por diferencia de peso se determinó el porcentaje de fibra de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-F-90-S-1978).

El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia de los otros parámetros y se expresó en porcentaje, calculando el contenido de carbohidratos con la siguiente fórmula (AOAC, 2002):

$$\% \text{ carbohidratos} = 100 - (\text{cenizas} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{humedad} + \text{fibra})$$

Mientras que el contenido de proteína se determinó por el método de Dumas (Calvo *et al.*, 2008). Para lo cual se pusieron 3 μg de muestra en una cápsula de níquel a la que se le agregaron 9 μg de pentaóxido de vanadio (V_2O_5), para luego introducir en el equipo Flash 2000 (Thermo Scientific®). El contenido de proteína se expresó en porcentaje.

La energía contenida en cada muestra se determinó por la suma de calorías contenidas en carbohidratos, grasas y proteínas como se describe en la Norma Oficial Mexicana (NOM-051-SCFI/SSA1-2010) y se expresó en Kcal kg^{-1} de la siguiente manera:

$$\% \text{ energía} = [(\text{grasa} \times 9) + (\text{carbohidratos} \times 4) + (\text{proteína} \times 4)]$$

4.6.3 Contenido mineral de granos secos

El contenido de nitrógeno (N) se determinó por el método Micro-Kjeldahl. Para determinar el contenido de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn), cobre (Cu) y níquel (Ni); para lo cual se mineralizó 1 g de muestra por digestión triácida de cada tratamiento y repetición. Para lo cual se pesó 1 g de muestra en una balanza analítica (HR-120) con precisión de ± 0.0001 g, que se colocó en un vaso de precipitado de 250 ml con perlas de ebullición adicionando 25 ml de la mezcla triácida (1000 ml de HNO_3 concentrado, 100 ml de HCl concentrado y 25 ml de H_2SO_4 concentrado); para luego pasar a una parrilla digestora en la campana de extracción de gases por una hora. Transcurrido el tiempo, el resultado se filtró en matraces volumétricos de 50 ml, se aforó y agitó con agua tridestilada (solución madre). Para luego verter en tubos de 50 ml para centrifugar. La concentración de K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, Cu y Ni se determinó por espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS, iCE 3000 Series, Thermo Scientific®). El contenido de fósforo (P) se determinó por el método colorimétrico de metavanadato de amonio (NH_4VO_3). Para lo cual en tubos de ensayo se añadieron 3.5 ml de agua tridestilada, 500 μl de la solución madre y 1 ml de reactivo de fósforo. Cada tubo se agitó en un vortex y dejó reposar durante una hora. Al finalizar el tiempo, se realizó la lectura en un espectrofotómetro de luz visible (Génesis 10s UV/Vis). Los macronutrientes se expresaron en porcentaje y los micronutrientes en ppm.

4.6.4 Capacidad antioxidante en ejotes y granos secos

El análisis se realizó por el método propuesto por Hsu *et al.* (2003). Para la extracción se maceró 1 g de muestra de cada tratamiento y repetición en 5 ml de metanol al 80%. Para luego centrifugar a 6000 rpm durante 10 minutos. Del extracto se tomaron 0.5 ml que se mezclaron con 2.5 ml de solución 0.1 mM de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) recién preparada. La mezcla se incubó durante 60 minutos en condiciones de oscuridad y frío. Transcurrido el tiempo, se realizó la lectura de absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro de luz

visible (Génesis 10s UV/Vis). El resultado se expresó en porcentaje de inhibición (% de inhibición) que se estimó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{blanco}}} \right) \times 100$$

A_{muestra} = absorbancia de la muestra, A_{blanco} = absorbancia del blanco (metanol al 80% y DPPH).

4.6.5 Compuestos bioactivos en ejotes y granos secos

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu por espectrofotometría mediante una curva patrón de ácido gálico (Singleton y Rossi, 1965). Para la extracción, se maceró 1 g de muestra de cada tratamiento y repetición en 5 ml de metanol al 80%. Luego se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min. Para la cuantificación de fenoles totales, en un tubo de ensayo se mezclaron 750 μl de Na_2CO_3 al 2%, 250 μl de Folin-Ciocalteu al 50%, 1375 μl de agua tridestilada y 250 μl del extracto. Después de una incubación a temperatura ambiente durante 60 min se midió la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Génesis 10s UV/Vis). Los resultados de fenoles totales se reportan en mg de ácido gálico g^{-1} de PS (mg AG g^{-1} PS).

El contenido de flavonoides se realizó con el método propuesto por Zhishen *et al.* (1999) por espectrofotometría mediante una curva estándar de catequina. Para la extracción, se maceró 0.5 g de muestra de cada tratamiento y repetición en 5 ml de metanol al 80%. Después se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min. Para la cuantificación de flavonoides, en un tubo de ensayo se agregaron 250 μl del extracto y 75 μl de NaNO_2 al 5%, se agitó en un vortex y se dejó reposar por 5 minutos. Transcurrido el tiempo, se agregaron 150 μl de AlCl_3 al 10%, 500 μl de NaOH al 1M y 2.025 ml de agua tridestilada. Se agitó nuevamente en el vortex y se procedió a la lectura de la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Génesis 10s UV/Vis). Los resultados de flavonoides se reportan en mg equivalente de catequina g^{-1} de Peso seco (mg EC g^{-1} PS).

La determinación del contenido de antocianinas se realizó por el método de pH diferencial propuesto por Wrolstad (1976). Para la extracción se maceraron 0.5 g de muestra de cada repetición con 5 ml de metanol al 80% para luego centrifugar a 6000 rpm durante 10 min. La mezcla de reacción se realizó en dos fases: 1) se tomaron 0.5 ml del extracto y se agregaron 2 ml de cloruro de potasio a pH 1.0, se agitó en un vortex y se midió la absorbancia a 460 nm. 2) se tomaron 0.5 ml del extracto y se agregaron 2 ml de acetato de sodio a pH 4.5 para luego agitar en un vortex y medir la absorbancia a 710 nm. La absorbancia se determinó en un espectrofotómetro de luz visible (Génesis 10s UV/Vis). Los resultados se reportan en mg de cianidina-3-glucósido g^{-1} de Peso seco (mg C3G g^{-1} PS).

4.7 Diseño experimental y análisis estadístico de datos

El experimento se estableció bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones por tratamiento, con una unidad experimental de 4.8 m². Los datos se analizaron bajo un diseño de bloques completos al azar en arreglo factorial 4x4 con cuatro repeticiones. Los factores fueron las dosis edáficas (0.0, 0.125, 0.250 y 0.500 g planta⁻¹) y foliares (0.0, 12.5, 25.0 y 50.0 mM L⁻¹) de sulfato de zinc, lo que generó un total de 16 tratamientos. A los datos de cada variable evaluada se les realizó un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el programa estadístico SAS.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Propiedades físicas y químicas del sitio de siembra del experimento

En el Cuadro 1 se presentan las propiedades físicas y químicas del suelo del sitio de siembra del experimento. De acuerdo con el contenido de arena, limo y arcilla la textura del suelo es de tipo arcilloso, mientras que la densidad aparente indica una condición porosa del suelo, ideal para el desarrollo de cultivos agrícolas (FAO, 2009).

Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del suelo del sitio de siembra del experimento de frijol pelón (*V. unguiculata*).

Propiedades físicas y químicas	Resultados
Arena (%)	35
Limo (%)	20
Arcilla (%)	45
Textura (Bouyoucos)	Arcilloso
Densidad aparente (cilindro, g/cm ³)	1.35
pH (suelo: agua 1:2)	5.18
CE (uS cm ⁻¹)	36
MO (Walkley y Black, %)	3.81
Nitrógeno (micro-kjeldahl, %)	0.18
Fósforo (P-Olsen, ppm)	3.2
Potasio (acetato de amonio, Cmol Kg ⁻¹)	0.17
Calcio (acetato de amonio, Cmol Kg ⁻¹)	3.17
Magnesio (acetato de amonio, Cmol Kg ⁻¹)	1.56
Sodio (acetato de amonio, Cmol Kg ⁻¹)	0.26
Hierro (DTPA, ppm)	73.6
Zinc (DTPA, ppm)	0.70
Manganeso (DTPA, ppm)	35.0
Cobre (DTPA, ppm)	4.3

El pH del suelo se considera ligeramente ácido, mientras que el contenido de materia orgánica es moderadamente alto, característico de los suelos tropicales con altas precipitaciones (IPNI, 1999). El contenido de fósforo (P) y potasio (K) se consideran bajos, mientras que los contenidos de hierro (Fe), manganeso (Mn) y cobre (Cu) son adecuados; en tanto que el contenido de zinc es marginal, lo que indica que el suelo es deficiente de este mineral (FAO, 2009).

5.2 Composición proximal de ejotes

Los resultados de la composición proximal de los ejotes se presentan en el Cuadro 2. Para el contenido de cenizas y fibras en granos, y para las cenizas, grasas y contenido de proteína en valvas no se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis edáficas y foliares aplicadas. El contenido de cenizas en los granos y valvas es superior a los valores de entre 3.20 y 3.71% reportados para frijol caupi (Antova *et al.*, 2014). La no detección de diferencias estadística en las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc, para el contenido de fibras se debe a que esta variable no es influenciada por el tratamiento aplicado, además de que la valva es la parte del ejote que tiene mayor contenido de fibras.

Para el contenido de grasa en el grano 12 combinaciones edáficas y foliares de sulfato de zinc fueron estadísticamente ($p < 0.05$) similares al testigo (0.0 g edáfico – 0.0 mM foliar), mientras que tres combinaciones fueron diferentes estadísticamente, pero tuvieron contenidos menores de grasa, lo que indica que la biofortificación edáfica y foliar con sulfato de zinc no efecta el contenido de grasa en el grano verde. En general, el contenido de grasa de todos los tratamientos se encuentran dentro de los valores de grasa reportados en la literatura para frijol pelón (Antova *et al.*, 2014).

Para el contenido de fibra solo se observaron diferencias estadísticas en las valvas con valores entre 19.86 y 29.00%, los cuales son hasta cuatro veces superiores al contenido del grano que fue de 4.08 a 6.33%. En general, se observa que las diferentes dosis de sulfato de zinc disminuyeron el contenido

de fibras en las valvas, ya que al incrementar la dosis edáfica se observa disminución del contenido de fibra en la valva, sucediendo lo mismo con la dosis foliar. Los contenidos promedios de fibra en el grano se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura para granos verdes de frijol pelón (Thangadurai, 2005). En tanto que el mayor contenido de fibra en la valva, coincide con lo reportado por Nasir y Sidhu (2012), quienes reportan que las valvas de las leguminosas, tienen mayor contenido de grasa.

El contenido de proteína, osciló entre 28.68 y 32.65% en el grano, mientras que en las valvas fue de 14.77 y 17.47%, siendo solo estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) los contenidos de proteína del grano, en donde nueve combinaciones de dosis edáficas y foliares fueron estadísticamente diferente al contenido de proteína del testigo, dentro de las cuales sobresale la dosis 0.250 g edáfico – 50.0 mM foliar con el mayor contenido. Para los efectos individuales el mayor contenido de proteína se tuvo con la dosis de 0.250 g edáfico, mientras de forma foliar con 50.0 mM, el efecto de estas dosis individuales se ve reflejado al tener la combinación 0.250 g edáfico – 50.0 mM edáfico el mayor contenido de proteína. En general, el contenido de proteína del testigo y todas las dosis es mayor que los valores de 23.62 a 27.24% reportada por Gerrano *et al.* (2017) para vainas verdes de frijol pelón, las cuales se pueden deber a las dosis de sulfato de zinc aplicadas, ya que este mineral participa en la codificación de proteínas.

Para el contenido de carbohidratos se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) para los granos y valvas, con valores entre 44.96 y 53.64% en granos y entre 38.47 y 52.66% en valvas; presentando los mayores contenidos de carbohidratos los granos, con excepción de las dosis 0.125 g edáfico – 50.0 mM foliar, 0.250 g edáfico – 0.0 mM foliar, 0.250 g edáfico – 50.0 mM foliar y 0.500 g edáfico – 50.0 mM foliar que tuvieron el mayor contenido de carbohidratos en valva. Para el contenido de carbohidratos en los granos no se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis y el testigo, incluso en cinco dosis el contenido de carbohidratos fue menor que el testigo. En las valvas, todas las dosis tuvieron contenidos mayores de carbohidratos

que el testigo, en especial con 0.0 y 0.125 g edáfico se observa que al incrementar la dosis foliar de 0.0 a 50.0 mM se incrementa el contenido de carbohidratos, mientras que con 0.250 y 0.500 g edáfico al incrementar la dosis foliar de 0.0 a 50.0 mM no se observa incremento del contenido de carbohidratos, lo que indica que sin la aplicación edáfica de zinc o con dosis bajas (0.125 g) e incrementar la dosis foliar de 0.0 a 50.0 mM se tienen incrementos de carbohidratos en la vaina, lo que se puede deber a que la valva es la parte que entra primero en contacto con la dosis de zinc foliar y la parte donde más se acumula. En general, el contenido de carbohidratos de los granos, se encuentran en el promedio del 50% y en el rango de 37.5 a 65.7% reportados para los granos de frijol pelón (Antova *et al.*, 2014).

El contenido de energía osciló entre 3279 y 3450 Kcal kg⁻¹ en el grano y de 2304 a 2825 Kcal kg⁻¹ en las valvas. La energía en el grano no fue estadísticas diferente entre el testigo y las dosis edáficas y foliares evaluadas. Mientras que en las valvas todas las dosis tuvieron valores estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) al testigo, lo que indica que la aplicación edáfica y foliar de zinc tuvo efecto en las valvas. Para el efecto de la dosis por separado para los granos con 0.500 g edáfico y las valvas con 0.250 g edáfico se tiene la mayor energía, mientras que de forma foliar los mayores contenidos se tienen con 25.0 y 50.0 mM en los granos y valvas, respectivamente. El mayor contenido de energía de las dosis evaluadas tiene relación con el contenido de proteína y grasa, como lo reporta Nwokolo y Ilechokwa (1996). Lo que se refuerza con lo reportado por Thangadurai (2005), quien indica que los ejotes de las leguminosas tienen altos contenidos de proteínas, fibra y carbohidratos.

Cuadro 2. Composición proximal de ejotes de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	Ceniza (%)		Grasa (%)		Fibra (%)		Proteína (%)		Carbohidratos (%)		Energía (Kcal kg ⁻¹)	
		Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas
0.0	0.0	4.70 ^a	5.67 ^a	1.80 ^{ab}	1.42 ^a	4.82 ^a	29.00 ^a	29.40 ^{bc}	15.94 ^a	51.74 ^{abc}	38.47 ^e	3408 ^{ab}	2304 ^h
0.0	12.5	4.48 ^a	5.81 ^a	1.38 ^{bcd}	1.37 ^a	5.46 ^a	22.19 ^{bcd}	28.68 ^c	15.40 ^a	52.48 ^{ab}	46.58 ^{bc}	3371 ^{bc}	2602 ^d
0.0	25.0	4.51 ^a	5.81 ^a	1.84 ^a	1.27 ^a	4.84 ^a	21.69 ^{cde}	29.37 ^{bc}	15.68 ^a	51.49 ^{abc}	46.38 ^{bcd}	3400 ^{ab}	2597 ^d
0.0	50.0	5.78 ^a	5.47 ^a	1.19 ^d	1.30 ^a	5.07 ^a	21.50 ^{cde}	31.99 ^{ab}	16.68 ^a	48.05 ^{de}	49.63 ^{ab}	3309 ^d	2769 ^b
0.125	0.0	5.41 ^a	5.28 ^a	1.69 ^{ab}	1.44 ^a	4.26 ^a	23.56 ^{bcd}	29.46 ^{bc}	16.30 ^a	51.21 ^{abcd}	43.62 ^{cd}	3379 ^{bc}	2526 ^{fg}
0.125	12.5	5.52 ^a	5.22 ^a	1.74 ^{ab}	1.43 ^a	4.08 ^a	23.40 ^{bcd}	29.25 ^{bc}	16.92 ^a	50.16 ^{bcd}	44.66 ^{cd}	3333 ^{cd}	2592 ^{de}
0.125	25.0	4.53 ^a	5.50 ^a	1.72 ^{ab}	1.13 ^a	5.15 ^a	23.82 ^{bcd}	29.04 ^{bc}	15.26 ^a	52.02 ^{abc}	45.61 ^{cd}	3397 ^{ab}	2536 ^f
0.125	50.0	5.94 ^a	5.35 ^a	1.81 ^{ab}	1.15 ^a	5.07 ^a	20.78 ^{de}	30.14 ^{abc}	14.77 ^a	50.37 ^{abcd}	52.66 ^a	3383 ^{bc}	2801 ^a
0.250	0.0	5.03 ^a	5.73 ^a	1.97 ^a	1.17 ^a	6.04 ^a	20.18 ^{de}	30.71 ^{abc}	16.84 ^a	49.07 ^{cd}	51.16 ^a	3368 ^{bc}	2825 ^a
0.250	12.5	4.57 ^a	5.51 ^a	1.74 ^{ab}	1.16 ^a	5.45 ^a	22.88 ^{bcd}	29.79 ^{abc}	15.60 ^a	51.91 ^{abc}	45.93 ^{cd}	3425 ^{ab}	2566 ^e
0.250	25.0	5.51 ^a	6.09 ^a	1.71 ^{abc}	1.13 ^a	5.23 ^a	21.66 ^{cde}	30.73 ^{abc}	16.44 ^a	50.30 ^{abcd}	45.78 ^{cd}	3395 ^{ab}	2591 ^{de}
0.250	50.0	5.25 ^a	5.51 ^a	1.94 ^a	1.37 ^a	5.86 ^a	20.63 ^{de}	32.65 ^a	17.24 ^a	44.96 ^e	46.65 ^{bc}	3279 ^d	2679 ^c
0.500	0.0	4.82 ^a	5.76 ^a	1.69 ^{ab}	1.35 ^a	6.33 ^a	20.87 ^{de}	29.28 ^{bc}	17.47 ^a	51.95 ^{abc}	46.03 ^{cd}	3401 ^{ab}	2661 ^c
0.500	12.5	4.41 ^a	5.41 ^a	1.23 ^{cd}	1.25 ^a	5.58 ^a	25.64 ^{ab}	29.27 ^{bc}	15.07 ^a	53.64 ^a	45.16 ^{cd}	3427 ^{ab}	2522 ^{fg}
0.500	25.0	5.39 ^a	5.22 ^a	1.88 ^a	1.21 ^a	4.77 ^a	24.74 ^{bc}	29.82 ^{abc}	16.94 ^a	52.20 ^{abc}	43.04 ^d	3450 ^a	2508 ^g
0.500	50.0	4.99 ^a	5.88 ^a	1.63 ^{abcd}	1.24 ^a	5.58 ^a	19.86 ^e	31.50 ^{abc}	17.10 ^a	49.64 ^{bcd}	50.15 ^a	3392 ^{ab}	2802 ^a
Edáfico	0.0	4.87 ^a	5.69 ^a	1.55 ^c	1.34 ^a	5.05 ^a	23.59 ^a	29.86 ^{ab}	15.92 ^a	50.94 ^a	45.26 ^b	3372 ^b	2568 ^c
	0.125	5.35 ^a	5.34 ^a	1.74 ^{ab}	1.29 ^a	4.64 ^a	22.89 ^a	29.47 ^b	15.81 ^a	50.94 ^a	46.64 ^a	3373 ^b	2614 ^b
	0.250	5.09 ^a	5.71 ^a	1.84 ^a	1.21 ^a	5.64 ^a	21.34 ^b	30.97 ^a	16.53 ^a	51.86 ^a	47.38 ^a	3367 ^b	2665 ^a
	0.500	4.90 ^a	5.57 ^a	1.61 ^{bc}	1.26 ^a	5.56 ^a	22.78 ^{ab}	29.97 ^{ab}	16.64 ^a	49.06 ^b	46.09 ^{ab}	3418 ^a	2623 ^b
Foliar	0.0	4.99 ^a	5.61 ^a	1.52 ^b	1.34 ^a	5.36 ^a	23.40 ^a	29.71 ^b	16.64 ^a	50.99 ^a	44.82 ^b	3389 ^b	2579 ^b
	12.5	4.74 ^a	5.49 ^a	1.79 ^a	1.30 ^a	5.14 ^a	23.53 ^a	29.25 ^b	15.75 ^a	52.05 ^a	45.58 ^b	3388 ^b	2571 ^b
	25.0	4.98 ^a	5.65 ^a	1.79 ^a	1.18 ^a	5.00 ^a	22.98 ^a	29.74 ^b	16.08 ^a	51.50 ^a	45.20 ^b	3411 ^a	2558 ^c
	50.0	5.49 ^a	5.55 ^a	1.64 ^{ab}	1.26 ^a	5.39 ^a	20.69 ^b	31.57 ^a	16.45 ^a	48.25 ^b	49.77 ^a	3341 ^c	2763 ^a

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

5.3 Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ejote

La concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los ejotes (granos y valvas) se presenta en el Cuadro 3. El contenido de fenoles totales, tuvo valores entre 2.01 y 3.40 mg AG g⁻¹ de peso fresco (PF) en los granos y de 1.94 a 4.55 mg AG g⁻¹ PF en las valvas. En general, el contenido de fenoles totales de los granos y valvas se encuentra entre los valores de 1.77 y 4.37% reportados para frijol pelón (Moreira-Araújo *et al.*, 2017). La mayor concentración de fenoles totales se tuvo en las valvas, lo que se puede deber a la coloración que presentaron de morado al violeta. En el grano cuatro dosis tuvieron contenidos mayores de fenoles totales que el testigo, presentando el mayor contenido la dosis 0.250 g edáfico – 50.0 mM foliar. Para los efectos individuales las dosis de 0.250 y 0.500 g edáfico tienen el mayor contenido de fenoles totales, mientras que de forma foliar el mayor contenido lo tuvo la dosis de 50.0 mM. Al respecto, se sabe que las plantas incrementan el contenido de fenoles totales como respuesta a las condiciones de estrés (Castro-López *et al.*, 2015), como ocurre con la aplicación de sulfato de zinc que provoca estrés en la planta. Para las valvas dos dosis tuvieron contenidos mayores de fenoles totales que el testigo. Para los efectos individuales no se observa una relación entre la dosis edáfica y el contenido de fenoles, ya que al incrementar la dosis no se incrementa el contenido de fenoles totales, mientras que de forma foliar la dosis de 12.5 mM tuvo el mayor contenido de fenoles totales.

El contenido de flavonoides en el grano y valva tuvo diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las diferentes dosis edáficas y foliares. El contenido de flavonoides de los ejotes (granos + valvas) es similar al promedio de 0.86 ± 0.12 mg EC g⁻¹ PF reportado para *Vigna angularis* (Prati *et al.*, 2007). En el grano seis dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc tuvieron mayores contenidos de flavonoides que el testigo, presentando la dosis 0.250 g edáfico – 50.0 mM foliar el mayor contenido. Para los efectos individuales con 0.125 y 0.250 g edáficos y con 50.0 mM foliar se tienen los mayores contenidos de flavonoides en el grano. Para las valvas cuatro dosis tuvieron mayores contenidos de flavonoides que el testigo, presentado el mayor contenido la dosis 0.125 g edáfico – 0.0 mM foliar. Con 0.125 g edáficos se tuvo el mayor contenido de flavonoides, mientras que de forma foliar se observa que al incrementar

de 12.5 a 50.0 mM de sulfato de zinc el contenido de flavonoides disminuye. Lo que indica que la dosis edáfica que más incrementa el contenido de flavonoides es de 0.125 g.

El contenido de antocianinas tuvo valores que oscilaron entre 0.25 y 0.57 mg C3G g⁻¹ PF en los granos, mientras que en las valvas fueron de 0.13 a 0.33 mg C3G g⁻¹ PF, valores que se encuentran dentro de los promedios reportados para frijol pelón (Moreira-Araújo *et al.*, 2017). Para el grano se observa que seis dosis tuvieron contenidos mayores que el testigo, mientras que en las valvas cuatro dosis tienen contenidos mayores que el testigo; para el grano y la valva el mayor contenido de antocianinas se tuvo con la dosis de 0.125 g edáfico -12.5 mM foliar. Para los efectos individuales en el grano con 0.125 g edáfico y con 0.0, 12.5 y 0.250 mM foliar se tienen los mayores contenidos de flavonoides. En tanto que para las valvas no se observan diferencias estadísticas entre el testigo (0.0 g edáfico) y las diferentes dosis de sulfato de zinc. Para los efectos individuales con 12.5 mM foliar se tiene el mayor contenido de antocianinas.

Para la capacidad antioxidante los valores oscilaron entre 87.02 y 93.67% en el grano y de 50.05 a 88.20% en las valvas, presentando los mayores valores de capacidad antioxidante el grano. Para el grano solo la dosis de 0.500 g edáfico – 12.5 mM foliar tuvo mayor capacidad antioxidante que el testigo, mientras que en las valvas seis dosis tuvieron mayor capacidad antioxidante que el testigo. En general, las dosis con los mayores valores de capacidad antioxidante, son aquellas que tienen altos valores de fenoles totales y flavonoides, ya que los compuestos fenólicos son los responsables de las propiedades antioxidantes (Yao *et al.*, 2012). Para los efectos individuales en el grano con 0.250 y 0.500 g edáficos se tienen los mayores valores, mientras que de forma foliar las dosis de 12.5 y 25.0 mM presentan efectos similares que el testigo, ya que al incrementar a 50.0 mM los valores disminuyen. Para las valvas no se observaron diferencias estadísticas entre el testigo y las dosis de 0.125 y 0.250 g edáfico, pero al incrementar a 0.500 g la capacidad antioxidante disminuye. En tanto que de forma foliar con 12.5 mM se tiene la mayor capacidad antioxidante.

Cuadro 3. Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ejotes de frijol pelón en respuesta a la aplicación de diferentes dosis de sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	Fenoles totales (mg GA g ⁻¹ PF)		Flavonoides (mg CE g ⁻¹ PF)		Antocianinas (mg C3G g ⁻¹ PF)		Capacidad antioxidante (% Inhibición)	
		Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas	Granos	Valvas
0.0	0.0	2.23 ^{ef}	3.14 ^{cde}	0.55 ^{def}	0.18 ^{bcd}	0.40 ^{bcd}	0.20 ^{bcde}	88.21 ^{bc}	57.67 ^{cd}
0.0	12.5	2.14 ^{ef}	4.00 ^{ab}	0.41 ^f	0.20 ^{bcd}	0.32 ^{cd}	0.24 ^{bc}	88.00 ^{bc}	88.20 ^a
0.0	25.0	2.22 ^{ef}	3.14 ^{cde}	0.55 ^{def}	0.10 ^f	0.40 ^{bcd}	0.16 ^{de}	88.98 ^{bc}	74.72 ^{ab}
0.0	50.0	3.30 ^{ab}	2.83 ^{def}	0.59 ^{bcde}	0.12 ^{ef}	0.44 ^{abc}	0.17 ^{cde}	90.99 ^{abc}	50.72 ^{cd}
0.125	0.0	2.40 ^{ef}	3.68 ^{bc}	0.54 ^{def}	0.25 ^a	0.46 ^{abc}	0.13 ^e	89.27 ^{bc}	84.76 ^a
0.125	12.5	2.53 ^{def}	4.55 ^a	0.66 ^{abc}	0.18 ^{bcd}	0.57 ^a	0.33 ^a	92.13 ^{ab}	57.61 ^{cd}
0.125	25.0	2.01 ^f	1.94 ^g	0.67 ^{abc}	0.18 ^{bcd}	0.48 ^{ab}	0.21 ^{bcde}	87.02 ^c	55.08 ^{cd}
0.125	50.0	2.61 ^{cdef}	2.58 ^{efg}	0.62 ^{ab}	0.19 ^{bcd}	0.43 ^{abc}	0.21 ^{bcd}	90.34 ^{abc}	55.74 ^{cd}
0.250	0.0	3.11 ^{abcd}	2.20 ^{fg}	0.66 ^{abc}	0.17 ^{cde}	0.49 ^{ab}	0.26 ^{ab}	91.11 ^{abc}	64.50 ^{bc}
0.250	12.5	2.17 ^{ef}	2.18 ^{fg}	0.50 ^{ef}	0.15 ^{def}	0.40 ^{bcd}	0.20 ^{bcde}	90.11 ^{abc}	78.82 ^a
0.250	25.0	2.25 ^{ef}	2.36 ^{fg}	0.78 ^a	0.22 ^{ab}	0.40 ^{bcd}	0.18 ^{cde}	89.94 ^{abc}	58.28 ^{cd}
0.250	50.0	3.40 ^a	3.31 ^{bcd}	0.73 ^{ab}	0.12 ^{ef}	0.35 ^{bcd}	0.18 ^{cde}	90.26 ^{abc}	56.17 ^{cd}
0.500	0.0	3.20 ^{abc}	3.16 ^{cde}	0.61 ^{bcde}	0.21 ^{abc}	0.41 ^{bc}	0.17 ^{cde}	90.90 ^{abc}	50.05 ^d
0.500	12.5	2.74 ^{bcde}	3.19 ^{cde}	0.57 ^{cde}	0.19 ^{bcd}	0.36 ^{bcd}	0.24 ^{bc}	93.67 ^a	54.52 ^{cd}
0.500	25.0	2.34 ^{fe}	3.39 ^{bcd}	0.48 ^{ef}	0.23 ^{ab}	0.39 ^{bcd}	0.18 ^{cde}	91.15 ^{abc}	60.87 ^{bcd}
0.500	50.0	2.43 ^{fe}	2.37 ^{fg}	0.71 ^{abc}	0.15 ^{de}	0.25 ^d	0.17 ^{cde}	90.27 ^{abc}	50.12 ^d
Edáfico	0.0	2.48 ^{bc}	3.28 ^a	0.53 ^c	0.15 ^b	0.39 ^b	0.19 ^a	89.04 ^b	67.82 ^a
	0.125	2.38 ^c	3.19 ^a	0.65 ^a	0.20 ^a	0.49 ^a	0.22 ^a	89.69 ^b	63.29 ^a
	0.250	2.73 ^a	2.51 ^b	0.67 ^a	0.16 ^b	0.41 ^b	0.21 ^a	90.34 ^{ab}	64.44 ^a
	0.500	2.68 ^{ab}	3.03 ^a	0.59 ^b	0.19 ^a	0.35 ^b	0.19 ^a	91.50 ^a	53.89 ^b
Foliar	0.0	2.73 ^a	3.05 ^b	0.59 ^b	0.20 ^a	0.44 ^a	0.19 ^b	89.86 ^{ab}	64.24 ^b
	12.5	2.38 ^b	3.48 ^a	0.54 ^c	0.18 ^b	0.42 ^{ab}	0.25 ^a	90.98 ^a	69.78 ^a
	25.0	2.20 ^b	2.71 ^c	0.62 ^b	0.18 ^b	0.41 ^{ab}	0.18 ^b	90.46 ^a	62.24 ^b
	50.0	2.93 ^a	2.78 ^{bc}	0.69 ^a	0.14 ^c	0.37 ^b	0.19 ^b	89.27 ^b	53.19 ^c

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

5.4 Rendimiento y componentes del rendimiento de granos secos de frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc

El efecto de la biofortificación foliar con sulfato de zinc aplicado de forma foliar se presenta en el Cuadro 4. Para el rendimiento de grano por planta se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las diferentes dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc, superando estadísticamente nueve dosis el rendimiento del testigo, en general todas las dosis superaron el rendimiento del testigo con incrementos del 7.18 al 61.41%. Sobre el mayor rendimiento de las diferentes dosis edáficas y foliares del sulfato de zinc Sida-Arreola *et al.*, (2017) indican que el mayor rendimiento de grano por planta de las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc indican que el rendimiento de grano de las leguminosas se incrementa con la dosis adecuada de zinc. Para los efectos individuales se observa que todas las dosis edáficas de sulfato de zinc incrementaron el rendimiento, mientras que de forma foliar no se observaron diferencias entre las dosis y el testigo, pero con 12.5 mM se tiene un 4.58% más rendimiento que el testigo. Lo que coincide con El-Dahshouri *et al.* (2017) quienes indican que la aplicación de zinc incrementa el rendimiento y los componentes de rendimientos en las plantas cultivadas.

Para el ancho, largo y grosor de grano no se observan diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc evaluadas. El tamaño de grano de todas las dosis de sulfato de zinc edáfico y foliar se encuentran entre los valores reportados para estas variables (Hamid *et al.*, 2016) con valores promedios para ancho, largo y grosor de 5.49, 6.46 y 5.07 mm, respectivamente. El peso de 100 granos es superior a los 11 g reportados por Apáez-Barrios *et al.* (2011), pero se encuentra dentro de los valores de entre 11.8 y 16.7 g reportados para frijol pelón biofortificado con zinc (Guillén-Molina *et al.*, 2016). Para las dosis por separado con 0.250 g edáficos se producen los granos con mayor tamaño y peso de 100 granos, mientras que con 12.5 mM foliar se tienen los mayores valores en ancho, grosor y peso de 100 granos. Al respecto, los mayores valores en dimensiones y peso de grano se tuvieron con la dosis de 0.250 g edáfico - 12.5 mM foliar. Lo que coincide con

Sida-Arreola *et al.* (2015b) quienes reportan que la aplicación adecuada de zinc incrementa la producción de grano en leguminosas; mientras que Yashona *et al.* (2018) reportan que la aplicación edáfica y foliar de forma simultánea de zinc tiene mejor respuesta en el rendimiento que hacer aplicaciones por separado.

Cuadro 4. Rendimiento y componentes de rendimiento de grano de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis de sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	RGP (g planta ⁻¹)	P100 (g)	Ancho (mm)	Largo (mm)	Grosor (mm)
0.0	0.0	31.90 ^d	14.37 ^{ab}	5.48 ^a	8.15 ^a	4.40 ^a
0.0	12.5	38.75 ^{bcd}	14.35 ^{ab}	5.65 ^a	8.22 ^a	4.55 ^a
0.0	25.0	36.90 ^{bcd}	14.15 ^{ab}	5.63 ^a	8.44 ^a	4.43 ^a
0.0	50.0	44.39 ^{abc}	13.70 ^b	5.55 ^a	8.22 ^a	4.41 ^a
0.125	0.0	42.42 ^{abc}	14.20 ^{ab}	5.71 ^a	8.32 ^a	4.50 ^a
0.125	12.5	50.34 ^a	14.21 ^{ab}	5.70 ^a	8.28 ^a	4.48 ^a
0.125	25.0	46.38 ^{ab}	13.95 ^{ab}	5.65 ^a	8.50 ^a	4.51 ^a
0.125	50.0	39.02 ^{bcd}	14.03 ^{ab}	5.59 ^a	8.24 ^a	4.41 ^a
0.250	0.0	42.90 ^{abc}	14.22 ^{ab}	5.71 ^a	8.35 ^a	4.54 ^a
0.250	12.5	44.43 ^{ab}	14.70 ^a	5.85 ^a	8.55 ^a	4.55 ^a
0.250	25.0	34.19 ^{cd}	14.41 ^{ab}	5.73 ^a	8.52 ^a	4.46 ^a
0.250	50.0	38.36 ^{bcd}	14.05 ^{ab}	5.76 ^a	8.49 ^a	4.45 ^a
0.500	0.0	51.49 ^a	14.29 ^{ab}	5.73 ^a	8.36 ^a	4.47 ^a
0.500	12.5	46.03 ^{ab}	14.28 ^{ab}	5.77 ^a	8.40 ^a	4.54 ^a
0.500	25.0	42.72 ^{abc}	14.02 ^{ab}	5.75 ^a	8.33 ^a	4.48 ^a
0.500	50.0	39.03 ^{bcd}	13.71 ^b	5.55 ^a	8.26 ^a	4.32 ^a
Edáfico	0.0	37.16 ^b	14.14 ^a	5.58 ^b	8.26 ^b	4.45 ^a
	0.125	44.54 ^a	14.10 ^a	5.66 ^{ab}	8.34 ^{ab}	4.47 ^a
	0.250	39.97 ^{ab}	14.35 ^a	5.76 ^a	8.48 ^a	4.50 ^a
	0.500	44.83 ^a	14.07 ^a	5.70 ^{ab}	8.34 ^{ab}	4.46 ^a
Foliar	0.0	42.56 ^a	14.27 ^a	5.66 ^a	8.30 ^a	4.48 ^{ab}
	12.5	44.51 ^a	14.39 ^a	5.74 ^a	8.36 ^a	4.53 ^a
	25.0	40.05 ^a	14.13 ^{ab}	5.69 ^a	8.45 ^a	4.47 ^{ab}
	50.0	39.52 ^a	13.87 ^b	5.61 ^a	8.30 ^a	4.40 ^a

RGP= Rendimiento de granos por planta, P100= Peso de 100 granos. Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

5.5 Composición proximal de granos secos de frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc

La composición proximal de los granos secos se presenta en el Cuadro 5, donde se observan diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc aplicadas, con excepción del contenido de fibra en donde no se observaron diferencias estadísticas entre el testigo y las diferentes dosis. Para el contenido de cenizas los valores oscilaron entre 3.37 y 4.08%, presentando los mayores valores ocho dosis a las que se les aplicaron las mayores dosis edáficas (0.250 y 0.500 g), en las que se observa que el contenido de cenizas incrementa con el incremento en la dosis foliar. En general los contenidos de cenizas de las diferentes dosis de sulfato de zinc aplicadas de forma edáfica y foliar son similares a los reportados por Carvalho *et al.* (2012) para frijol pelón.

Para el contenido de grasa se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis, pero solo cuatro dosis tuvieron valores mayores que el testigo, y 11 dosis tienen contenidos mayores que la media de 1.4% reportado para frijol pelón (Carvalho *et al.*, 2012), mientras que con 0.250 g edáfico - 12.5 mM foliar y 0.250 g edáfico - 25.0 mM foliar se tuvieron los valores mayores de 1.92% (Antova *et al.*, 2014), lo que indica que estas dosis incrementan el contenido de grasa en el grano y se asocia con beneficios en la salud humana (Baptista *et al.*, 2017). Para los efectos individuales, se observa que la aplicación edáfica y foliar de zinc incrementa el contenido de grasa, presentado la dosis de 0.250 g edáficos el mayor contenido de grasa, valor que es estadísticamente superior ($p < 0.05$) al testigo; para la aplicación foliar las tres dosis de sulfato de zinc, tuvieron valores estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) que el testigo, lo que indica que el zinc incrementa el contenido de grasa.

Para el contenido de carbohidratos los valores oscilaron entre 49.43 y 54.46%, los cuales se encuentran entre los valores de 35.7 y 65.7% reportados por Antova *et al.* (2014). En general, los mayores valores son estadísticamente similares al contenido del testigo, pero el contenido de carbohidratos de las dosis de 0.250 g edáfico – 50 mM foliar y 0.500 g foliar – 0.0 mM foliar son

superiores en un 1.02 y 0.80% al testigo. Para los efectos individuales el contenido del testigo es estadísticamente similar a las diferentes dosis de zinc e inclusive con la dosis de 0.250 g se tienen menores contenidos de carbohidratos, mientras que de forma foliar se observan incrementos con las dosis de 12.5 y 25.0 mM foliar, pero estadísticamente similar al testigo (0.0 mM).

Para el contenido de proteína se encontraron valores entre 25.27 y 29.59%, pero ningún valor es estadísticamente diferente al contenido del testigo, pero con la dosis 0.250 g edáfico - 25.0 mM foliar se tiene un 14.34% más proteína que el testigo (0.0 g edáfico – 0.0 mM foliar). En general, el testigo y las diferentes edáficas y foliares de sulfato de zinc tienen valores superiores a los 23.90% de proteína reportados para frijol pelón (Hamid *et al.*, 2016), lo que indica que el contenido de proteína puede estar afectado por la dosis edáfica y foliar de sulfato de zinc, debido a que el zinc es un mineral que influye en la síntesis de proteínas (Chavan *et al.*, 2012). Sobre el alto contenido nutricional del frijol pelón, se sabe que se debe al contenido de proteína y carbohidratos que tiene, representando la proteína su mayor ventaja para consumo humano (Lambot, 2002). Sobre la proteína la OMS indica que el requerimiento diario para adultos, incluidas las mujeres embarazadas o lactantes es de 0.66 g kg⁻¹ o 105 mg de nitrógeno kg⁻¹ de peso corporal (WHO, 2002). Por lo que, con la ingesta de 100 g de granos biofortificados con las dosis con más de 27% de proteína se cumple con el requerimiento diario de ingesta de proteína. Para los efectos de las dosis de forma individual no se observaron diferencias estadísticas entre las dosis edáficas, pero con 0.250 g se tiene el mayor contenido de proteína; mientras que de forma foliar no se tienen diferencias estadísticas entre el testigo y las dosis de 12.5 y 25.0 mM.

Para el contenido de energía, seis dosis tuvieron valores estadísticamente superiores que el contenido del testigo, presentando la dosis 0.250 g edáfico - 12.5 mM foliar el mayor contenido de energía (3389 Kcal kg⁻¹). Mientras que para los efectos individuales las dosis de 0.125 y 0.250 g tuvieron los mayores contenidos, mientras que de forma foliar con las diferentes dosis de

sulfato de zinc se tuvo mayores contenidos que el testigo. Sobre el contenido de energía se sabe que depende del contenido de carbohidratos y proteínas (Timko y Singh, 2008; Baptista *et al.*, 2017), la que se observa en las dosis con las que se tuvo el mayor contenido de energía.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Cuadro 5. Composición proximal de granos secos de frijol pelón biofortificados con diferentes dosis de sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	Ceniza (%)	Grasa (%)	Fibra (%)	Carbohidratos (%)	Proteína (%)	Energía (Kcal kg ⁻¹)
0.0	0.0	3.37 ^b	1.46 ^{cd}	3.49 ^a	53.91 ^{ab}	25.88 ^{ab}	3323 ^{de}
0.0	12.5	3.40 ^b	1.37 ^{cd}	3.82 ^a	53.72 ^{ab}	25.93 ^{ab}	3309 ^e
0.0	25.0	3.41 ^b	1.31 ^d	3.72 ^a	53.05 ^{ab}	26.60 ^{ab}	3304 ^e
0.0	50.0	3.51 ^b	1.63 ^{cd}	4.21 ^a	53.60 ^{ab}	25.96 ^{ab}	3329 ^{de}
0.125	0.0	3.43 ^b	1.95 ^{bc}	3.91 ^a	52.68 ^b	26.35 ^{ab}	3337 ^{cd}
0.125	12.5	3.48 ^b	1.40 ^{cd}	2.98 ^a	52.47 ^b	27.99 ^{ab}	3344 ^{bc}
0.125	25.0	3.49 ^b	1.77 ^{cd}	3.03 ^a	52.30 ^{ab}	27.73 ^{ab}	3361 ^{ab}
0.125	50.0	3.50 ^b	1.84 ^{bc}	2.79 ^a	53.96 ^{ab}	25.99 ^{ab}	3364 ^{ab}
0.250	0.0	3.95 ^a	1.51 ^{cd}	3.05 ^a	52.44 ^b	27.30 ^{ab}	3326 ^{de}
0.250	12.5	3.98 ^a	2.72 ^a	2.92 ^a	52.16 ^b	26.31 ^{ab}	3389 ^a
0.250	25.0	3.99 ^a	2.30 ^{ab}	3.01 ^a	49.43 ^c	29.59 ^a	3368 ^a
0.250	50.0	4.02 ^a	1.53 ^{cd}	2.95 ^a	54.46 ^a	25.27 ^b	3327 ^{de}
0.500	0.0	4.03 ^a	1.40 ^{cd}	2.83 ^a	54.34 ^a	25.62 ^b	3324 ^{de}
0.500	12.5	4.08 ^a	1.82 ^{bcd}	3.14 ^a	53.08 ^{ab}	26.13 ^{ab}	3332 ^{cd}
0.500	25.0	4.04 ^a	1.57 ^{cd}	3.12 ^a	53.15 ^{ab}	26.28 ^{ab}	3319 ^{de}
0.500	50.0	4.01 ^a	1.70 ^{cd}	3.48 ^a	53.60 ^{ab}	25.82 ^b	3330 ^{de}
Edáfico	0.0	3.42 ^b	1.44 ^c	3.81 ^a	53.57 ^a	26.09 ^a	3316 ^b
	0.125	3.47 ^b	1.74 ^b	3.18 ^a	52.85 ^{ab}	27.01 ^a	3351 ^a
	0.250	4.00 ^a	2.01 ^a	2.98 ^a	52.12 ^b	27.12 ^a	3351 ^a
	0.500	4.03 ^a	1.62 ^{bc}	3.14 ^a	53.54 ^a	25.96 ^a	3326 ^b
Foliar	0.0	3.68 ^b	1.56 ^b	3.32 ^a	53.34 ^{ab}	26.29 ^{ab}	3327 ^b
	12.5	3.75 ^a	1.83 ^a	3.21 ^a	52.86 ^b	26.59 ^{ab}	3343 ^a
	25.0	3.73 ^{ab}	1.74 ^{ab}	3.22 ^a	51.98 ^c	27.55 ^a	3337 ^{ab}
	50.0	3.76 ^a	1.67 ^{ab}	3.36 ^a	53.90 ^a	25.76 ^b	3337 ^{ab}

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

5.6 Contenido mineral de granos secos

La concentración de macro y micronutrientes se presentan en el Cuadro 6. Para el nitrógeno y fósforo, no se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis de zinc aplicadas de forma edáfica y foliar. En general, los contenidos de nitrógeno se encuentran entre los valores reportados para frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc (Gillén-Molina *et al.*, 2016; Estrada-Domínguez *et al.*, 2018, Márquez-Quiroz *et al.*, 2018), pero son mayores al contenido de 4.01% reportado para frijol pelón (Antova *et al.*, 2014). Para el contenido de potasio los valores oscilaron entre 0.38 y 1.13%, pero solo con seis dosis se tienen valores superiores que el testigo. Para los efectos individuales se observa que el testigo y las dosis de 0.125 y 0.250 g tienen los mayores contenidos, mientras que de forma foliar con todas las dosis se tienen mayores contenidos que el testigo, presentado la dosis de 12.5 mM foliar el mayor contenido.

El calcio osciló entre 0.15 y 0.41%, pero solo con las dosis de 0.125 g edáfico – 12.5 mM foliar y con 0.125 g edáfico – 50.0 mM foliar se tienen mayores contenidos que el testigo. Para los efectos individuales con la dosis de 12.5 g edáfico y con todas las dosis foliares se tiene incrementos del contenido de calcio, presentando la dosis de 50.0 mM el mayor contenido. En general, el contenido de calcio de las diferentes dosis es menor que el rango de 0.85 a 1.40% reportados para cultivares de frijol pelón (Frota *et al.*, 2008), lo cual se puede deber al efecto antagonista que hay entre el calcio y el zinc (Prasad *et al.*, 2016), por lo que las diferentes dosis de sulfato de zinc disminuyeron el contenido de calcio.

El contenido de magnesio osciló entre 0.14 y 0.19%, presentando mayor contenido que el testigo la dosis de 0.125 g edáfico – 0.0 mM foliar. En general, al incrementar la dosis edáfica y foliar disminuye el contenido de magnesio en el grano, ya que con la mayor dosis edáfica y foliar (0.500 g edáfico – 50.0 mM foliar) se tiene el menor contenido. Por los efectos individuales se observa que la dosis de 0.125 g edáfico es estadísticamente similar al contenido que se tiene con el testigo, mientras que con las dosis foliares no se observan diferencias

estadística entre el testigo y las diferentes dosis. Lo que indica que la aplicación edáfica y foliar de sulfato de zinc no tiene efecto en el contenido de este mineral, ya que al incrementar a más de 0.125 g edáfico el contenido de magnesio en el grano disminuye. El contenido magnesio es bajo con respecto a los reportados para frijol pelón, lo que se puede deber a que la aplicación de dosis elevadas de zinc interfieren con su absorción y translocación (Cakmak, 2000). Por otro lado, las variaciones pueden deberse a una ligera toxicidad en presencia de las dosis elevadas de zinc, especialmente con la fertilización foliar con las dosis de 25.0 y 50.0 mM L⁻¹ que se tuvo problemas de necrosis en hojas jóvenes y menor crecimiento de plantas. El contenido de sodio osciló entre 0.005 y 0.009%, pero ninguna dosis presentó contenidos superiores estadísticamente que el testigo, al contrario algunas dosis disminuyeron el contenido de sodio en el grano. Para las dosis individuales no se encontraron diferencias entre el testigo y las diferentes dosis, mientras que de forma foliar la dosis de 50.0 mM fue estadísticamente diferente al testigo, lo que indica que esta dosis se incrementa el contenido de sodio en el grano.

Con respecto, al contenido de manganeso se encontraron valores entre 7.74 y 12.64 ppm, presentado 10 dosis contenidos mayores que el testigo, lo que indica que la aplicación foliar y edáfica de sulfato de zinc incrementa el contenido de este mineral. Para los efectos individuales con las dosis de 0.125 y 0.250 g edáficos se tienen contenidos similares que el testigo, ya que al incrementar a 0.500 g edáficos el contenido de manganeso disminuye, presentando la dosis foliar efectos similares. Para el cobre solo con las dosis de 0.0 g edáfico – 25.0 mM foliar y con 0.500 g edáfico – 25.0 mM foliar se tienen contenidos de cobre superiores que el testigo. En tanto que para los efectos individuales se observa que de forma edáfica las diferentes dosis de sulfato de zinc incrementan el contenido, mientras que de forma foliar no se observan diferencias estadísticas entre el testigo y las diferentes dosis. Para el contenido de hierro los valores oscilaron entre 40.96 y 56.95 ppm, presentando cuatro dosis contenidos mayores que el testigo. Para los efectos individuales no se observan diferencias estadísticas entre las dosis edáficas y foliares y el testigo.

Con respecto al contenido de hierro Timko y Singh (2008) mencionan que en *V. unguiculata* el contenido de hierro oscila entre 48 y 79 ppm, por lo que los valores encontrados se encuentran dentro de este rango. Para el zinc el menor contenido se tuvo con el testigo, presentando todas las dosis contenidos mayores que el testigo. Aunque para los efectos individuales no se observan diferencias estadísticas entre el contenido de zinc del testigo y las diferentes dosis edáficas y foliares aplicadas, pero se ve una tendencia a incrementar el contenido de zinc con el incremento de la dosis aplicada. El mayor contenido de zinc en el grano (56.54 ppm) de la dosis 0.125 g edáfico - 50.0 mM foliar; es bajo con respecto a las 71.2 ppm reportadas para frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc (Estrada-Domínguez *et al.*, 2018). Estas diferencias se pueden deber a que el presente trabajo se realizó bajo condiciones de campo, mientras que el trabajo que reporta altos contenidos de zinc se estableció bajo condiciones de invernadero y sustrato inerte. Además de que las condiciones ambientales y del suelo pueden influir en el menor contenido de zinc en el grano, por ejemplo durante la primera aplicación de zinc se tuvo una precipitación pluvial de 30 mm (Figura 1), lo que pudo influir en la absorción foliar, en tanto que el contenido de hierro en el suelo (Tabla 1) puede interferir en la absorción del zinc por su antagonismo (Timko y Singh, 2008). De forma general, la concentración de zinc de todas las dosis tienen contenidos menores de las 61 ppm establecidos como nivel crítico en las plantas, para tener un estado de suficiencia de zinc en la nutrición (Huett *et al.*, 2008). Mientras que el contenido de manganeso y cobre se encuentra dentro del rango reportado por Guillén-Molina *et al.* (2016). En general, se observa que el contenido medio del hierro en el grano es menor que el contenido de zinc, aunque en el suelo se encuentra en forma adecuada con 73.6 ppm (Tabla 1), lo que se puede deber al antagonismo del hierro y el zinc (Prasad *et al.*, 2016). Para el níquel ocho dosis tuvieron contenidos superiores que el testigo, mientras que de forma individual solo de forma edáfica se observa que las dosis incrementa el contenido de níquel.

Cuadro 6. Concentración de macro y micronutrientes de granos secos de frijol pelón biofortificado con diferentes dosis de sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)	Sodio (%)	Manganeso (ppm)	Cobre (ppm)	Hierro (ppm)	Zinc (ppm)	Níquel (ppm)
0.0	0.0	4.14 ^a	0.11 ^a	0.49 ^{de}	0.19 ^{cd}	0.15 ^{bc}	0.008 ^{abcd}	8.87 ^d	8.26 ^b	42.94 ^{bc}	47.77 ^b	4.32 ^c
0.0	12.5	4.15 ^a	0.12 ^a	1.13 ^a	0.15 ^d	0.17 ^{abc}	0.005 ^d	12.30 ^a	9.31 ^{ab}	52.33 ^{ab}	52.66 ^{ab}	4.75 ^{bc}
0.0	25.0	4.26 ^a	0.11 ^a	0.45 ^{de}	0.28 ^{bc}	0.18 ^{ab}	0.008 ^{abc}	10.88 ^{bc}	9.24 ^{ab}	43.17 ^{bc}	52.75 ^{ab}	5.15 ^{abc}
0.0	50.0	4.15 ^a	0.11 ^a	0.94 ^{abc}	0.18 ^{cd}	0.16 ^{abc}	0.009 ^{ab}	11.63 ^{ab}	9.24 ^{ab}	52.50 ^{ab}	55.55 ^{ab}	5.22 ^{abc}
0.125	0.0	4.22 ^a	0.11 ^a	0.49 ^{cd}	0.26 ^{bcd}	0.19 ^a	0.006 ^{bcd}	10.26 ^{bc}	9.45 ^{ab}	40.96 ^c	48.46 ^b	5.89 ^{abc}
0.125	12.5	4.48 ^a	0.11 ^a	0.68 ^{cde}	0.35 ^{ab}	0.16 ^{abc}	0.009 ^a	11.09 ^{ab}	9.18 ^{ab}	49.23 ^{abc}	51.15 ^{ab}	6.53 ^a
0.125	25.0	4.44 ^a	0.10 ^a	1.08 ^{ab}	0.24 ^{bcd}	0.17 ^{abc}	0.005 ^d	12.64 ^a	9.20 ^{ab}	55.13 ^a	52.61 ^{ab}	5.72 ^{abc}
0.125	50.0	4.16 ^a	0.11 ^a	0.41 ^{de}	0.41 ^a	0.17 ^{abc}	0.007 ^{abcd}	9.05 ^{cd}	8.93 ^{ab}	45.81 ^{abc}	56.54 ^a	5.85 ^{abc}
0.250	0.0	4.37 ^a	0.12 ^a	0.96 ^{abc}	0.23 ^{cd}	0.15 ^{bc}	0.009 ^{ab}	12.13 ^a	9.78 ^{ab}	55.09 ^a	50.24 ^{ab}	6.35 ^{ab}
0.250	12.5	4.21 ^a	0.11 ^a	0.38 ^e	0.15 ^d	0.16 ^{abc}	0.006 ^{cd}	9.48 ^{cd}	9.44 ^{ab}	42.04 ^{bc}	49.95 ^{ab}	6.26 ^{ab}
0.250	25.0	4.73 ^a	0.11 ^a	0.74 ^{bcd}	0.22 ^{cd}	0.14 ^c	0.007 ^{abcd}	11.03 ^{ab}	9.24 ^{ab}	49.50 ^{abc}	54.35 ^{ab}	5.99 ^{ab}
0.250	50.0	4.04 ^a	0.11 ^a	1.11 ^a	0.21 ^{cd}	0.15 ^{bc}	0.007 ^{abcd}	8.33 ^d	9.20 ^{ab}	56.95 ^a	53.20 ^{ab}	6.16 ^{ab}
0.500	0.0	4.10 ^a	0.12 ^a	0.44 ^{de}	0.18 ^{cd}	0.15 ^{bc}	0.006 ^{cd}	8.71 ^d	9.59 ^{ab}	50.92 ^{abc}	49.69 ^{ab}	5.99 ^{ab}
0.500	12.5	4.18 ^a	0.12 ^a	0.96 ^{abc}	0.23 ^{cd}	0.14 ^{bc}	0.007 ^{abcd}	11.22 ^{ab}	9.61 ^{ab}	55.51 ^a	55.28 ^{ab}	6.23 ^{ab}
0.500	25.0	4.20 ^a	0.12 ^a	0.46 ^{de}	0.18 ^{cd}	0.16 ^{abc}	0.005 ^d	7.74 ^e	9.94 ^a	41.65 ^{bc}	49.00 ^{ab}	6.07 ^{ab}
0.500	50.0	4.13 ^a	0.12 ^a	0.67 ^{cde}	0.26 ^{bcd}	0.14 ^c	0.009 ^{ab}	10.35 ^{bc}	9.77 ^{ab}	49.08 ^{abc}	54.97 ^{ab}	5.69 ^{abc}
Edáfico	0.0	4.17 ^a	0.11 ^{ab}	0.75 ^{ab}	0.20 ^b	0.16 ^{ab}	0.008 ^a	10.92 ^a	9.01 ^b	47.73 ^a	52.18 ^a	4.86 ^b
	0.125	4.32 ^a	0.11 ^b	0.66 ^{ab}	0.31 ^a	0.17 ^a	0.007 ^a	10.76 ^a	9.19 ^{ab}	47.78 ^a	52.19 ^a	6.00 ^a
	0.250	4.34 ^a	0.11 ^{ab}	0.80 ^a	0.20 ^b	0.15 ^b	0.007 ^a	10.24 ^{ab}	9.42 ^{ab}	50.90 ^a	51.24 ^a	6.19 ^a
	0.500	4.15 ^a	0.12 ^a	0.63 ^b	0.21 ^b	0.15 ^b	0.007 ^a	9.51 ^b	9.73 ^a	49.29 ^a	52.93 ^a	6.00 ^a
Foliar	0.0	4.21 ^a	0.11 ^a	0.59 ^b	0.21 ^b	0.16 ^a	0.007 ^b	9.99 ^{ab}	9.27 ^a	47.48 ^{ab}	49.04 ^b	5.64 ^a
	12.5	4.25 ^a	0.11 ^a	0.79 ^a	0.22 ^{ab}	0.16 ^a	0.007 ^b	11.03 ^a	9.39 ^a	49.78 ^{ab}	52.26 ^a	5.94 ^a
	25.0	4.41 ^a	0.11 ^a	0.68 ^{ab}	0.23 ^{ab}	0.16 ^a	0.007 ^b	10.57 ^{ab}	9.41 ^a	47.36 ^b	52.18 ^a	5.73 ^a
	50.0	4.12 ^a	0.11 ^a	0.78 ^a	0.26 ^a	0.15 ^a	0.008 ^a	9.84 ^b	9.29 ^a	51.08 ^a	55.07 ^a	5.73 ^a

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

5.7 Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos secos

El contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se presenta el Cuadro 7. El contenido de fenoles totales osciló entre 1.06 y 2.03 mg AG g⁻¹ PS, presentando las dosis 0.125 g edáfico – 50.0 mM foliar y 0.250 g edáfico – 0.0 mM foliar mayores contenidos que el testigo. De acuerdo con Marathe *et al.* (2011) el contenido fenólico de las leguminosas se pueden clasificar como de contenido bajo (<1.0 mg EAG g⁻¹), moderado (1.0–2.0 mg EAG g⁻¹) y alto (> 2.0 mg EAG g⁻¹), por lo que la dosis testigo y catorce dosis tienen contenido moderado de fenoles totales, mientras que la dosis con el mayor contenido de fenoles totales (0.125 g edáficos - 50.0 mM foliar) se clasifica como de alto contenido. Con excepción de la dosis con la que se tuvo un contenido fenólico alto, los resultados de las otras dosis coinciden con el contenido moderado de compuestos fenólicos reportado para frijol pelón biofortificado con zinc (Estrada-Domínguez *et al.*, 2018).

Para el contenido de flavonoides tres dosis tuvieron contenidos mayores que el testigo, presentando los mayores contenidos las dosis de 0.500 g edáfico, y 25.0 y 50.0 mM foliar, lo que indica que el contenido de zinc incrementa el contenido de flavonoides. En general, el contenido de todas las dosis de sulfato de zinc edáfico y foliar es superior al rango de entre 0.064 y 0.458 mg AG g⁻¹ PS reportado para frijol pelón biofortificado (Estrada-Domínguez *et al.*, 2018), lo que puede indicar que las dosis incrementan el contenido de este compuesto. Para los efectos individuales se observa que el incremento de zinc edáfico y foliar incrementa el contenido de flavonoides, ya que con 0.500 g edáfico, y con 25.0 y 50.0 mM foliar se tiene el mayor contenido. El contenido de antocianinas osciló entre 0.96 y 1.28 mg C3G g⁻¹ PS, presentando cuatro dosis contenidos superiores que el testigo. Pero de forma individual no se observan efectos entre el testigo y las diferentes dosis edáficas y foliares. Pero en general los valores de antocianinas se encuentran entre el rango de 0.875 y 3.86 mg g⁻¹ PS reportados por Awika y Duodu (2017).

Cuadro 7. Concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de granos secos de frijol pelón biofortificado con sulfato de zinc.

Edáfico (g planta ⁻¹)	Foliar (mM L ⁻¹)	Fenoles totales (mg AG g ⁻¹ PS)	Flavonoides (mg EC g ⁻¹ PS)	Antocianinas (mg C3G g ⁻¹ PS)	Capacidad Antioxidante (% inhibition)
0.0	0.0	1.58 ^{bc}	0.57 ^{cd}	0.96 ^b	86.57 ^{de}
0.0	12.5	1.51 ^{bc}	0.61 ^{bcd}	1.05 ^{ab}	88.05 ^{bc}
0.0	25.0	1.54 ^{bc}	0.50 ^d	1.18 ^{ab}	87.88 ^{bcd}
0.0	50.0	1.76 ^{ab}	0.59 ^{cd}	1.26 ^a	89.60 ^a
0.125	0.0	1.62 ^{bc}	0.65 ^{bc}	1.20 ^{ab}	89.01 ^{ab}
0.125	12.5	1.52 ^{bc}	0.63 ^{bc}	1.21 ^{ab}	87.46 ^{cde}
0.125	25.0	1.70 ^b	0.70 ^{abc}	1.26 ^a	87.26 ^{cde}
0.125	50.0	2.03 ^a	0.69 ^{abc}	1.11 ^{ab}	88.21 ^{bc}
0.250	0.0	1.97 ^a	0.63 ^{bc}	1.25 ^a	88.01 ^{bc}
0.250	12.5	1.15 ^{de}	0.68 ^{bc}	1.28 ^a	88.04 ^{bc}
0.250	25.0	1.06 ^e	0.63 ^{bc}	1.11 ^{ab}	87.30 ^{cde}
0.250	50.0	1.16 ^{de}	0.74 ^{ab}	1.05 ^{ab}	88.30 ^{abc}
0.500	0.0	1.41 ^{cd}	0.67 ^{bc}	1.22 ^{ab}	87.45 ^{cde}
0.500	12.5	1.07 ^e	0.69 ^{bc}	1.19 ^{ab}	86.49 ^e
0.500	25.0	1.53 ^{bc}	0.82 ^a	1.13 ^{ab}	89.12 ^{ab}
0.500	50.0	1.19 ^{de}	0.83 ^a	1.19 ^{ab}	88.61 ^{abc}
Edáfico	0.0	1.60 ^b	0.57 ^c	1.11 ^a	88.02 ^a
	0.125	1.72 ^a	0.67 ^b	1.20 ^a	87.99 ^a
	0.250	1.34 ^c	0.67 ^b	1.17 ^a	87.91 ^a
	0.500	1.30 ^c	0.75 ^a	1.18 ^a	87.92 ^a
Foliar	0.0	1.64 ^a	0.63 ^b	1.16 ^a	87.76 ^b
	12.5	1.31 ^c	0.66 ^b	1.18 ^a	87.51 ^b
	25.0	1.46 ^b	0.67 ^{ab}	1.17 ^a	87.89 ^b
	50.0	1.54 ^b	0.71 ^a	1.15 ^a	88.68 ^a

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

La capacidad antioxidante de las diferentes dosis edáficas y foliares aplicadas osciló entre 86.49 a 89.60%, presentando 10 dosis contenidos mayores que el testigo. Al respecto, se sabe que los mayores valores de capacidad antioxidante están relacionados con el contenido de fenoles totales, flavonoides y antocianinas (Awika y Duodu, 2017). Lo que coincide en el presente trabajo, ya que las dosis que presentaron mayor capacidad antioxidante tuvieron mayor contenido de estos compuestos bioactivos, mientras que la dosis con el menor contenido de compuestos bioactivos presentó la menor actividad antioxidante (0.500 g edáfico – 12.5 mM foliar). En general, se observa que el contenido de fenoles totales incrementa con dosis bajas de zinc (0.125 g edáfico - 0.0 mM foliar), en tanto que el contenido de

flavonoides se incrementa con las mayores dosis de zinc (0.500 g edáfico - 50.0 mM foliar). Para el efecto de la aplicación foliar de sulfato de zinc se observa que la capacidad antioxidante incrementa con las dosis foliares, presentando la mayor inhibición la dosis de 50.0 mM foliar, lo que coincide con quienes reportan que la capacidad antioxidante incrementa con la aplicación de zinc de forma foliar (Sida-Arreola *et al.*, 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

6. CONCLUSIÓN

La biofortificación agronómica de forma edáfica y foliar de frijol pelón con diferentes dosis de sulfato de zinc tiene efecto en la composición proximal y la concentración de compuestos bioactivos del ejote (granos + valvas); mientras que en los granos incrementa el rendimiento, composición proximal, contenido mineral y compuestos bioactivos. Para los granos verdes el mayor contenido de grasa, fibra, carbohidratos, fenoles totales y flavonoides se tiene con 0.250 g edáficos, mientras que de forma foliar el mayor contenido de cenizas, fibra, proteína, energía, fenoles totales y flavonoides se tienen con 50.0 mM. En general, en la valva se tiene los menores contenidos de proteína, carbohidratos, flavonoides y antocianinas.

Con 0.500 g edáfico – 50.0 mM foliar se tuvo el mayor contenido de carbohidratos y capacidad antioxidante en el grano verde; en tanto que todas las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc incrementan el rendimiento de grano. Con 0.250 g edáfico se tiene el mayor contenido de grasa en el grano, en tanto que el mayor contenido de proteína se tiene con 25.0 mM foliares. Con todas las dosis edáficas y foliares de sulfato de zinc evaluadas se incrementa el contenido de zinc en el grano, pero con 0.125 g edáfico – 50.0 mM foliar se tuvo el mayor contenido de zinc en el grano. Para el contenido de compuestos bioactivos las dosis edáficas de sulfato de zinc no afectaron el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante, pero con 0.125 g se tiene el mayor contenido de fenoles totales; en tanto que de forma foliar se observa que la dosis de 50.0 mM incrementa el contenido de flavonoides y capacidad antioxidante.

7. LITERATURA CITADA

- Alloway BJ (2008) Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association and International Fertilizer Industry Association. Second edition. Brussels-Paris. 135p.
- Alloway BJ (2009) Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Health* 31: 537-548.
- Antova GA, Stoilava TD, Ivanova MM (2014) Proximate and lipid composition of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivated in Bulgaria. *Journal of Food Composition and Analysis* 33: 146-152.
- AOAC (2002) Official Methods of Analysis of the AOAC. Washington, D.C. USA. In: Horwitz W (Ed.). The Association of Official Analytical Chemists.
- Apáez-Barrios P, Escalante-Estrada JA, Rodríguez-González MT (2011) Crecimiento y rendimiento del frijol chino en función del tipo de espaldera y clima. *Tropical and Subtropical Agroecosystem* 13(3): 307-315.
- Awika JM, Duodu KG (2017) Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*Vigna unguiculata*) and their health promoting properties: A review. *Journal Functional Foods* 38: 686-697.
- Baptista A, Pinho O, Pinto E, Casal S, Motal C, Ferreira SM (2017) Characterization of protein and fat composition of seeds from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and bambara groundnuts (*Vigna subterranea* L. Verdc) from Mozambique. *Food Measure* 11: 442-450.
- Barak P, Helmke PA (1993) The chemistry of zinc. In: Robson AD (ed.) Zinc in soil and plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp: 1–13.
- Beltrán MFA, García HJL, Ruíz, EFH, Fenech LL, Murillo AB, Palacios EA, Troyo DE (2009) Nutritional potential of red dolichos, brown dolichos and cowpea for green manure produced under three tillage systems. *Tropical and Subtropical Agroecosystem* 10: 487-495.
- Bouis HE, Welch RM (2010) Biofortification: a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Science* 50(1): 20-32.

- Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: micronutrients. In: Marschner P (Ed.). Marschner's mineral nutrition of higher plants. Third Edition. Elsevier Ltd. Oxford, UK. pp: 191-248.
- Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A (2007) Zinc in plants. *New Phytologist* 173(4): 677-702.
- Cakmak I (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cell from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist* 146: 185-205.
- Cakmak I (2008) Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil* 302: 1-17.
- Cakmak I, McLaughlin MJ, White P (2017) Zinc for better crop production and human health. *Plant soil* 411: 1-4.
- Cakmak I, Pfeiffer WH, McClafferty B (2010) Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemical* 87: 10-20.
- Calvo NIR, Echeverría HE, Rozas HS (2008) Comparación de métodos de determinación de nitrógeno y azufre en planta: Implicancia en el diagnóstico de azufre en trigo. *Ciencia del Suelo* 26: 161-167.
- Cárdenas BGD, Arrazola PG, Villalba CM (2014) Frutas tropicales: Fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. *Ingenium* 17(33): 29-40.
- Carnovale E, Lugaro E, Marconi E (1991) Protein quality and antinutritional factors in wild and cultivated species of *Vigna* spp. *Plant Foods Human Nutrition* 41: 11-20.
- Carvalho AFU, de Sousa NM, Farias DF, da Rocha-Bezerra LCB, da Silva RMP, Viana MP, Gouveia ST, Sampaio SS, de Sousa MB, de Lima GPG, de Moraes SM, Barros CC, Filho FRF (2012) Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. *Journal of Food Composition and Analysis* 26(1-2): 81-88.
- Castro-López LR, Ortega-Regules AE, Lozada-Ramírez JD (2015) Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos* 9: 5-15.

- Chattha MU, Hassan MU, Khan I, Chattha MB, Mahmood A, Chattha MU, Nawaz M, Subhani MN, Kharal M, Khan S (2017) Biofortification of wheat cultivars to combat zinc deficiency. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-8.
- Chavan AS, Khafi MR, Raj AD, Parmar RM (2012) Effect of potassium and zinc on yield, protein content and uptake of micronutrients on cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Agricultural Science Digest* 32(2): 175-177.
- CONAGUA (2017) Comisión Nacional del Agua. Disponible en: <https://www.gob.mx/conagua/>. Consultado: 4 de octubre de 2017.
- Corea EE, Aguilar JM, Alas NP, Alas EA, Flores JM, Broderick GA (2017) Effects of dietary cowpea (*Vigna sinensis*) hay and protein level on milk yield, milk composition, N efficiency and profitability of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 226: 48-55.
- El-Dahshouri MF, El-Fouly MM, Khalifa RKHM, El-Ghany HMA (2017) Effect of zinc foliar application at different physiological growth stages on yield and quality of wheat under sandy soil conditions. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* 193: 193-200.
- Estrada-Domínguez V, Márquez-Quiroz C, De la Cruz-Lázaro E, Osorio-Osorio R, 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.
- FAO (2009) Guía para la descripción de suelos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 99p.
- Frota K, Soares R, Arêas J (2008) Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28(2): 470-476.
- Gárate A, Bonilla I (2013) Nutrición mineral y producción vegetal. En: Azcón-Bieto J, Talón M (Eds.). *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. pp: 143-164.
- García E (1998) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Sexta Edición. Instituto de Geografía-UNAM. Serie libros, México. 98p.

- García HJL, Valdez CRD, Ávila SNY, Murillo AB, Nieto GA, Magallanes QR, Larrinaga MJ, Troyo DE (2005) Preliminary compositional nutrient diagnosis norms for cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown on desert calcareous soil. *Netherlands Plant Soil* 271: 297-307.
- Gerrano AS, van Rensburg WSJ, Adebola PO (2017) Nutritional composition of immature pods in selected cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] genotypes in South Africa. *Australian Journal of Crop Science* 11(2): 134-141.
- Gomathi M, Vethamoni PI, Gopinath P (2017) Biofortification in vegetable crops – A review. *Chemical Science Review Letters* 6(22): 1227-1237.
- Guillén-Molina M, Márquez-Quiroz C, De la Cruz-Lázaro E, Velázquez-Martínez JR, Soto-Parra JM, García CM, Orozco VJA (2016) Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con hierro y zinc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Número especial* 17: 3427-3438.
- Hacisalihoglu G, Kochian LV (2003) How do some plants tolerate low levels of soil zinc? Mechanisms of zinc efficiency in crop plants. *New Phytologist* 159: 341-350.
- Hafeez B, Khanif YM, Saleem M (2013) Role of zinc in plant nutrition-A review. *American Journal of Experimental Agriculture* 3(2): 374-391.
- Hambidge M (2000) Human zinc deficiency. *The Journal of Nutrition* 130: 1344-1349.
- Hamid S, Muzaffar S, Ahmed WI, Ahmad MF, Munaf BM (2016) Physical and cooking characteristics of two cowpea cultivars grown in temperate Indian climate. *Journal Saudi Society of Agricultural Sciences* 15(2): 127-134.
- Hänsch R, Mendel RR (2009) Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* 12(3): 259-266.
- Hershinkel M (2005) Zn²⁺, a dynamic signaling molecule. *In: Tamas MJ, Martinoia E (Eds.) Molecular biology of metal homeostasis and detoxification. Springer Berlin, Heidelberg. pp: 131-153.*

- Hotz C, Brown KH (2004) Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food and Nutrition Bulletin 25(Supplement 2): S91-S204.
- Hsu CL, Chen W, Weng YM, Tseng CY (2003) Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. Food Chemistry 83: 85-92.
- Huett DO, Maier NA, Sparrow LA, Piggot TJ (2008) Vegetable crops. In: Reuter DJ, Robinson JB (Eds.). Plant analysis: an interpretation manual. 2nd ed. CSIRO. Collingwood, Victoria, Australia. pp: 383-464.
- Ibrahim EA, Ramadan WA (2015) Effect of zinc foliar spray alone and combined with humic acid or/and chitosan on growth, nutrient elements content and yield of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants sown at different dates. Scientia Horticulturae 184: 101-105.
- IPNI (1999) Acidez y encalado de los suelos. Primera Edición. International Plant Nutrition Institute. Ecuador-Costa rica. 42p.
- Kabata-Pendias A (2001) Trace elements in soils and plants. 3rd ed. CRC Press. Boca Raton, USA. 394p.
- Kramer U, Clemens S (2005) Function and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. Topics Current Genetic 14: 215-271.
- Lambot C (2002) Industrial potential of cowpea. In: Fatokun CA, Tarawali SA, Singh BB, Kormawa PM, Tamó M (Eds.). Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. pp: 367-423.
- Luciano P, Tokatlidis K, Chambre I, Germanique JC, Geli V (1998) The mitochondrial processing peptidase behaves as a zinc metallopeptidase. Journal Molecular Biology 280: 193-199.
- Manna D, Maity TK (2016) Growth, yield and bulb quality of onion (*Allium cepa* L.) in response to foliar application of boron and zinc. Journal of Plant Nutrition 39: 438-441.
- Manzeke MG, Mtambanengwe F, Nezomba H, Watts MJ, Broadley MR, Mapfumo P (2017) Zinc fertilization increases productivity and grain

- nutritional quality of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) under integrated soil fertility management. *Field Crops Research* 213: 231-244.
- Marathe SA, Rajalakshmi V, Jamdar SN, Sharma A (2011) Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2005-2012.
- Márquez-Quiroz C, De-la-Cruz-Lázaro E, Osorio-Osorio R, Sánchez-Chávez E, Huijara-Vasconcelos JJ, Sida-Arreola JP (2018) Contenido de zinc y rendimiento de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol. esp. núm. 20: 4175-4185.
- Meena HK, Krishna KR, Singh B (2015) Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *The Journal Plant Science Research* 31(1): 13-16.
- Miquilena E, Higuera MA (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: 730-740.
- Moreira-Araújo RSR, Sampaio GR, Manólio-Soares RA, Pereira-Silva R, Pereira-Silva JA (2017) Identification and quantification of antioxidant compounds in cowpea. *Revista Ciência Agronômica* 48(5): 799-805.
- Movahhedy DM, Modarres SSAM, Mokhtassi BA (2009) Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. *Industrial Crops and Products* 30: 82-92.
- Nasir M, Sidhu JS (2012) Common pulses: Chickpea, lentil, mungbean, black gram, pigeon pea and Indian Vetch. In: Siddiq M, Uebersax MA (Eds.) *Dry beans and pulses production, processing and nutrition*. John Wiley & Sons, Inc. pp: 283-309.
- NMX-F-066-S-1978. Alimentos. Determinación de cenizas en alimentos. Foodstuff determination of ashes. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-066-S-1978.PDF>. Consultado: 20 de marzo de 2019.

- NOM-021-SEMARNAT-2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. <https://www.ecolex.org/es/details/legislation/nom-021-recnat-2000-especificaciones-de-fertilidad-salinidad-y-clasificacion-de-suelos-lex-faoc050674/>. Consultado: 20 de marzo de 2019.
- NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-información comercial y sanitaria. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5137518&fecha=05/04/2010. Consultado: 20 de marzo de 2019.
- Nwokolo E, Ilechokwa (1996) Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). In: Nwokolo E, Smartt J (Eds.). Food and feed from legumes and oilseeds. First Edition. Chapman & Hall. Uk. pp: 229-242.
- NXM-F-90-S-1978. Determinación de fibra cruda en Alimentos. Foodstuff determination of crude fiber. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-090-S-978.PDF>. Consultado: 20 de marzo de 2019.
- Oomah BD, Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G (2005) Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). Journal of the Science of Food and Agriculture 85:935-942
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *In Vitro* assays. The Journal of Nutrition 133(9): 2812-2819.
- Poblaciones MJ, Rengel Z (2017) Combined foliar selenium and zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum*): accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. Crop and Pasture Science 68: 265-271.
- Potarzycki J, Przygocka CK, Grzebisz W, Szczepaniak W (2015) Effect of zinc application timing on yield formation by two types of maize cultivars. Plant, Soil and Environmental 61: 468-474.

- Prasad R (2010) Zinc biofortification of food grains in relation to food security and alleviation of zinc malnutrition. *Current Science* 98(10): 25-30.
- Prasad R, Shivay YS, Kumar D (2016) Interactions of zinc with other nutrients in soils and plants - A review. *Indian Journal of Fertilisers* 12(5): 16-26.
- Prati S, Baravelli V, Fabbri D, Schwarzinger C, Brandolini V, Maietti A, Tedeschi P, Benvenuti S, Macchia M, Marotti I, Bonetti A, Catizone P, Dinelli G (2007) Composition and content of seed flavonoids in forage and grain legume crops. *Journal of Separation Science* 30: 491-501.
- Quddus MA, Rashid MH, Hossain MA, Naser HM (2011) Effect of zinc and boron on yield and yield contributing characters of mungbean in low ganges river floodplain soil at Madaripur, Bangladesh. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* 36(1): 75-85.
- Ragab DM, Babiker EE, Eltinay AH (2004) Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry* 84(2): 207-212.
- Ramakrishnan K, Gnanam R, Sivakumar P, Manickam A (2005) *In vitro* somatic embryogenesis from cell suspension cultures of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Cell Reports* 24: 449-461.
- Rubio C, González SD, Martín IRE, Revert G, Rodríguez I, Hardisson A (2007) El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria* 22(1): 101-107.
- Rui HL (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The American Society for Nutritional Sciences Journal Nutrition* 134: 3479-3485.
- Sharma P, Aggarwal P, Kaur A (2017) Biofortification: a new approach to eradicate hidden hunger. *Food Reviews International* 33: 1-21.
- Sida-Arreola JP, Sánchez E, Dávila QGD, Zamudio FPB, Acosta MCH (2015b) Can improve iron biofortification antioxidant response, yield and nutritional in green bean? *Agricultural Science* 6(11): 1324-1332.
- Sida-Arreola JP, Sánchez E, Ojeda-Barrios DL, Ávila-Quezada GD, Flores-Córdova MA, Márquez-Quiroz C, Preciado-Rangel P (2017) Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional

- quality of beans? Emirates Journal of Food and Agricultural 29(3): 237-241.
- Sida-Arreola JP, Sánchez-Chávez E, Ávila-Quezada GD, Acosta-Muñiz CH, Zamudio-Flores PB (2015a) Biofortificación con micronutrientes en cultivos agrícolas y su impacto en la nutrición y salud humana. *Tecnociencia Chihuahua* 9(2): 67-74.
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture* 16(3): 144-158.
- Thangadurai D (2005) Chemical composition and nutritional potential of *Vigna unguiculata* ssp. *Cylindrica* (fabaceae). *Journal of Food Biochemistry* 29: 88-98.
- Timko MP, Singh B (2008) Cowpea, a multifunctional legume. In: Moore PH, Ming R (Eds.). *Genomics of tropical crop plants*. Volume 1. Springer. USA. pp: 227-258.
- Torres AR, Bahr VP (2004) El zinc: la chispa de la vida. *Revista Cubana de Pediatría* 76: 1561-1569.
- Tuyogon DSJ, Impa SM, Castillo OB, Larazo W, Johnson-Beebout SE (2016) Enriching rice grain zinc through zinc fertilization and water management. *Soil Science Society of America Journal* 80: 121-134.
- Wei Y, Shohag MJ, Yang X (2012) Biofortification and Bioavailability of Rice Grain Zinc as Affected by Different Forms of Foliar Zinc Fertilization. *PLOS ONE* 7(9): 1-10.
- Weiss DJ, Mason TFD, Zhao FJ, Kirk GJD, Coles BJ, Horstwood MSA (2005) Isotopic discrimination of zinc in higher plants. *New Phytologist* 165: 703-710.
- Welch RM, Graham RD (2005) Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 299-307.

- White PJ, Broadley MR (2009) Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist* 182: 49-84.
- White PJ, Thompson JA, Wright G, Rasmussen SK (2017) Biofortifying Scottish potatoes with zinc. *Plant and Soil* 411: 151-165.
- WHO (2002) Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series. No. 935. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 265p.
- Wrolstad RE (1976) Color and pigment analyses in fruit products. Oregon State University. Agricultural Experiment Station. Station Bulletin 624: 1-17.
- Yao Y, Cheng XZ, Wang LX, Wang SH, Ren G (2012) Major phenolic compounds, antioxidant capacity and antidiabetic potential of rice bean (*Vigna umbellata* L.) in China. *International Journal of Molecular Sciences* 13: 2707-2716.
- Yashona DS, Mishra US, Aher SB (2018) Response of pulse crops to sole and combined mode of zinc application: A review. *Journal Soils and Crops* 28(2): 249-258.
- Yin X, Yuan L, Liu Y, Lin Z (2012) Phytoremediation and biofortification: two sides of one coin. *In: Yin X, Yuan L (Eds). Phytoremediation and biofortification. Springer Netherlands. pp: 1-6.*
- 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.