



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**Rendimiento, contenido mineral y capacidad
antioxidante de *Vigna unguiculata* (L.) Walp cultivado
bajo diferentes dosis de hierro y zinc**

T E S I S

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

PRESENTA

Moisés Guillén Molina

Director

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro

Codirector

Dr. César Márquez Quiroz

Asesor

Dr. Esteban Sánchez Chávez

Villahermosa, Tabasco. Junio de 2016



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-186

Villahermosa, Tabasco, a 31 de mayo de 2016

ING. MOISÉS GUILLÉN MOLINA
EGRESADO DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
PRESENTE

Por este conducto y de acuerdo a su solicitud de autorización de impresión de Tesis, informo a ud. 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 "Rendimiento, contenido mineral y capacidad antioxidante de *Vigna unguiculata* (L.) Walp, cultivado bajo diferentes dosis de hierro y zinc"

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

ATENTAMENTE

DR. ROBERTO FLORES BELLO
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

Miembro CUMEX desde 2008
Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

C.c.p.- Archivo.

Km 25 de la carr. fed. 195, tramo Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. +52 (993) 358 1500, extensión 6607
Correo electrónico: daca.cica@yahoo.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 para que utilice tanto física como digitalmente el trabajo de tesis denominado **“RENDIMIENTO, CONTENIDO MINERAL Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE *Vigna unguiculata* (L.) Walp CULTIVADO BAJO DIFERENTES DOSIS DE HIERRO Y ZINC”** del 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 fines de educación, difusión y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa 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 manifestado, 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 03 días del mes de junio del año 2016.

AUTORIZO



Ing. Moisés Guillén Molina

Dedicatorias

A Dios y a mi Virgencita de Guadalupe, que siempre me dan las fuerzas para salir adelante en los momentos difíciles y por cuidarme y bendecirme a cada momento de mi vida.

A mis Padres, Rogelio Guillén y Oralia Molina por darme la vida y por ser mi motivo de superación.

A mis hermanos por apoyarme en todo y por darme ánimos para salir adelante. Este logro también es de ustedes.

“Uno puede devolver un préstamo de oro, pero siempre se estará en deuda con aquellos que son amables”

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada así como el apoyo para la realización de la estancia durante la realización de mis estudios de maestría.

A la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), por brindarme la oportunidad de continuar preparándome con mis estudios de maestría.

A mi director de tesis el Dr. Efraín de la Cruz Lázaro por su ayuda, aportación y asesoría brindada durante la realización de este proyecto. ¡Muchas gracias!

A mis asesores, Dr. Cesar Márquez Quiroz, por su gran ayuda y dedicación en este trabajo y al Dr. Esteban Sánchez Chávez, por permitir realizar gran parte de esta investigación en el laboratorio del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

Al Dr. Rodolfo Velázquez por aportación en mi trabajo de tesis.

Al comité revisor por sus valiosas sugerencias y aportaciones para la mejora de este trabajo.

A todos los profesores de la División Académica de Ciencias Agropecuarias por compartir su valioso conocimiento.

A mis compañeros/amigos/colegas Ing. Carlos Arjona, Ing. Cleome Abel por formar parte de esta etapa.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I.- INTRODUCCIÓN	xii
II.- ANTECEDENTES	1
2.1.- El cultivo del frijol caupí	1
2.1.1.- Origen y distribución	1
2.1.2.- Morfología y descripción botánica	1
2.1.3. Importancia	2
2.2.- Elementos esenciales	3
2.3.- El hierro en la planta	3
2.4.- El zinc en la planta	4
2.5.- El hierro en el ser humano	4
2.6.- El zinc en el ser humano	5
2.7.- Actividad antioxidante	6
2.8.- Radicales libres	7
2.9.- Biofortificación	7
2.10.- Quelatos	8
2.11.- Sulfatos	9
III.- OBJETIVOS	10
3.1.- Objetivo general	10

3.2.- Objetivos específicos.....	10
3.3.- Hipótesis.....	10
IV.- LITERATURA CITADA.....	11
V.- CAPÍTULO I. CONTENIDO MINERAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE FRIJOL CAUPÍ BIOFORTIFICADO CON SULFATO DE HIERRO Y ZINC.....	17
INTRODUCCIÓN.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	24
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	32
VI. CAPÍTULO 2. BIOFORTIFICACIÓN DE FRIJOL CAUPÍ (<i>VIGNA UNGUICULATA</i> L. WALP) CON HIERRO Y ZINC.....	37
RESUMEN.....	38
ABSTRACT.....	38
INTRODUCCIÓN.....	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
VII. - CONCLUSIONES GENERALES.....	59
VIII. – ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Capítulo 1	
Tabla 1.- Efecto de la aplicación de diferentes dosis de sulfato de Zn y Fe sobre el rendimiento en plantas de frijol caupí.....	25
Tabla 2.- Contenido mineral en semilla de frijol caupí biofortificadas con diferentes dosis de sulfato de Zn y Fe.....	26
Capítulo 2	
Tabla 1. Características agronómicas y componentes de rendimiento de la biofortificación de frijol caupí con quelato de Fe y Zn.....	47
Tabla 2. Contenido mineral del grano de frijol caupí biofortificado con quelatos de Fe y Zn.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Apartado 1.	
Figura 1. Esquema del comportamiento del quelato de Fe y su absorción en la raíz de las plantas.....	9
Capítulo 1	
Figura 1. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de sulfatos de Zn y Fe en el contenido de fenoles totales de la semilla de frijol caupí.....	28
Figura 2. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de sulfatos de Zn y Fe en la actividad antioxidante de la semilla de frijol caupí.....	28
Capítulo 2	
Figura 1. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de sulfatos de Zn y Fe en la actividad antioxidante en el grano del frijol caupí.....	52

RESUMEN

Las leguminosas son una fuente importante de alimento en los países en desarrollo, dentro de las cuales sobresale el frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp), como fuente de proteínas y minerales. El frijol caupí es un alimento de consumo diario para gran parte de la población mundial, que tiene deficiencia de hierro (Fe) y zinc (Zn). Por lo que es necesario incrementar el contenido de minerales como el hierro Fe y Zn, debido a sus principales funciones en el organismo humano; La ausencia de estos microelementos genera problemas de salud en millones de seres humanos. La biofortificación es una estrategia para disminuir la deficiencia de Fe y Zn en el organismo humano, esta técnica incrementa el contenido de elementos minerales en las partes comestibles de las plantas. Los objetivos del presente estudio fueron determinar el efecto de la biofortificación de frijol caupí con sulfatos y quelatos de Fe y Zn en mezclas de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$, sobre el rendimiento de grano, contenido mineral y actividad antioxidante. La biofortificación de frijol caupí con sulfato de zinc (ZnSO_4) y sulfato ferroso (FeSO_4) en dosis de 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ incrementó el contenido de Fe en un 36.6 % en comparación con el testigo, y obtuvo el mayor contenido de proteína cruda. El mayor porcentaje de actividad antioxidante se registró en las dosis de 25 - 0 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 (35.2 %) y 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 (33.0 %), con respecto al testigo, mientras que el contenido de fenoles, se incrementó en un 30.3 % en la dosis 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 . La biofortificación con quelato de hierro (Fe-EDDHA) y quelato de zinc (Zn-EDTA) en dosis de 50 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ tuvo el mayor rendimiento de grano, número y largo de vainas, mientras que el mayor porcentaje de actividad antioxidante se registró con 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Zn-EDTA. La biofortificación con fuentes de Fe y Zn ayudó a incrementar el contenido de minerales esenciales así como de compuestos bioactivos favorables para el organismo humano.

Palabras clave: Biofortificación; DPPH; Rendimiento; *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

Legumes are an important source of food in developing countries, among which stands out the cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) as a significant source of protein and minerals. Cowpea bean is a daily consumption food for much population of world, where iron (Fe) and zinc (Zn) deficiencies have high rate. So it is necessary to increase the mineral content such as Fe and Zn due to their main function in the human organism; the absence of these microelements generates health problems in millions of people. Agronomic biofortification is a strategy to reduce the Fe and Zn deficiency in the human organism, this technique increase the content of mineral elements in the edible parts of the plants. The objectives of the present study were to determine the effect of cowpea biofortification with Zn and Fe sulfates in doses of 0, 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ and Fe and Zn chelates in doses of 0, 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ on grain yield, mineral content and antioxidant activity.

Cowpea beans biofortification with Zn sulfate (ZnSO_4) and ferrous sulfate (FeSO_4) in doses 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ increased the Fe content of 36.6 % compared with the control and obtained the highest content of crude protein. The highest percentage of antioxidant activity was recorded at doses 25 - 0 $\mu\text{M L}^{-1}$ of ZnSO_4 y FeSO_4 (35.2 %) and 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ of ZnSO_4 y FeSO_4 (33.0 %) compared with the control and was based on the content of phenols, which it increased by 30.3% in doses 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ ZnSO_4 and FeSO_4 compared with the control. Biofortification with chelate of iron (Fe-EDDHA) and chelate of zinc (Zn-EDTA) in doses 50 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ recorded the highest grain yield, number and long pods, on the other hand the highest percentages of antioxidant activity were recorded in the applications of 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Zn-EDTA. The biofortification with Fe and Zn sources helps to increase the essential minerals content and favorable bioactive compounds for human organism.

Keys word: Biofortification; DPPH; Yield; *Vigna unguiculata*.

I.- INTRODUCCIÓN

El frijol caupí o pelón (*Vigna unguiculata* L. Walp), es una leguminosa que se adapta y produce a nivel mundial, de la cual se consumen los granos secos y maduros, hojas y vainas (Singh *et al.* 2013). En México, el frijol caupí se produce en los estados de Yucatán, Campeche y Tabasco. En el estado de Tabasco, se cultiva en los municipios de Centro, Huimanguillo, Jalapa, Macuspana, Tacotalpa y Teapa (SIAP 2013). Es un cultivo de gran importancia para los agricultores como alimento (Lagunes-Espinoza *et al.* 2008), que tiene entre el 23 y 32 % del peso seco en proteína (Diouf 2013), además de vitaminas y minerales (Miquilena y Moros 2012). La deficiencia de hierro (Fe) y zinc (Zn) en los alimentos afecta a más de 2,000 millones de seres humanos en el mundo, de los cuales el 60 % tienen deficiencia de Fe, el 30 % de Zn y el resto de otros minerales (Amarakoon *et al.* 2012). La deficiencia de Fe y Zn ocasionan problemas de anemias, disminución del crecimiento en niños y adolescentes, y problemas en el sistema inmunológico (Yin *et al.* 2012).

Para incrementar el contenido de elementos esenciales se emplea el mejoramiento genético de plantas, la ingeniería genética y la biofortificación (Yin *et al.* 2012). La biofortificación es una técnica que incrementa el rendimiento y la calidad de los cultivos (Aguirre *et al.* 2013), la cual es sostenible y capaz de incrementar el contenido nutricional de los cultivos mediante la aplicación de fertilizantes (Gómez-Galera *et al.* 2009). La biofortificación puede proporcionar una solución para mitigar la deficiencia de Fe y Zn en los alimentos

(Zimmermann *et al.* 2005). La mayoría de las investigaciones sobre biofortificación se han enfocado en incrementar el contenido de Fe en maíz (*Zea mays* L.) (Yin *et al.* 2012), arroz (*Oryza sativa* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Mayer *et al.* 2008). Mientras que el incremento de selenio (Se) y yodo (I) se ha realizado en lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Smolen *et al.* 2014) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Becvort-Azcurra *et al.* 2012)

Debido a que el frijol caupí es un cultivo de importancia en las regiones tropicales y en el estado de Tabasco, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la aplicación de quelato de hierro (Fe-EDDHA), quelato de zinc (Zn-EDTA), sulfato ferroso (FeSO₄) y sulfato de zinc (ZnSO₄) sobre el rendimiento, contenido mineral y capacidad antioxidante del grano de frijol caupí.

II.- ANTECEDENTES

2.1.- El cultivo del frijol caupí

2.1.1.- Origen y distribución

El frijol caupí o pelón (*Vigna unguiculata* L. Walp), es una leguminosa originaria de África, encontrándose parientes silvestres en África Occidental y Central, lo que indica que África es su centro de origen (Boukar *et al.* 2013). Mientras que otros estudios indican que la mayor diversidad genética de formas silvestres se encuentran en los países de Namibia, Botswana, Zambia, Zimbabue, Mozambique, Suazilandia y Sudáfrica (Timko y Singh 2008). De *Vigna unguiculata* se conocen cuatro subespecies, las cuales son: 1) *unguiculata*, que es la forma común, 2) *biflora* o *catjang*, que se caracteriza por tener vainas erectas y pequeñas, 3) *sesquipedalis*, que se caracteriza por tener vainas largas y consumirse en ejote y 4) *textilis*, que se utiliza para obtener fibra de sus largos pedúnculos (Ehlers y Hall 1997). En la actualidad el frijol caupí es una de las leguminosas más importantes para consumo humano, que se cultiva a nivel mundial (Singh 2002).

2.1.2.- Morfología y descripción botánica

El frijol caupí es una planta diploide ($2n = 2x = 22$), que pertenece a la familia de las fabáceas, tribu: Phaseoleae, género: *Vigna* y especie: *unguiculata*. El género tiene alrededor de 85 especies (Boukar *et al.* 2013), con

herbáceas que crecen en climas cálidos con temperaturas óptimas para su desarrollo entre 18 y 28 °C (Timko y Singh 2008).

Las plantas del género tienen crecimiento determinado o indeterminado, con tallos cortos o trepadores, hojas trifoliadas que tienen folíolos romboides u ovalados de tres a siete centímetros, flores blancas papilionadas, vainas verdes a amarillentas de 10 a 17 cm de forma cilíndrica, curvas o rectas con ocho a 18 semillas (Lagunes-Espinoza *et al.* 2008). Las semillas pueden ser de color blanco, crema, verde, rojo, marrón o negro (Timko y Singh 2008). Las cuales son reniformes, elipsoidales o esféricas con manchas irregulares, el hilo tiene el borde negro y hundido y el cojín es blanco y levantado (Boukar *et al.* 2013). Del género se tienen genotipos de ciclo corto que pueden tener semillas secas a los 60 días después de la siembra o genotipos tardíos que requieren más de 150 días tener semillas secas (Timko y Singh 2008).

2.1.3. Importancia

El frijol caupí es un cultivo importante en los trópicos y subtropicos del mundo (Segura-Campos *et al.* 2013), en donde es una fuente importante de proteínas y minerales, y se utiliza como alimento, forraje, abono verde o cultivo de cobertera (Zia-UI-Haq *et al.* 2013, Gupta *et al.* 2014). De que se consumen las puntas tiernas de los brotes, las vainas verdes y las semillas secas en diferentes platillos (Zia-UI-Haq *et al.* 2013). El contenido proteína de la semilla varía del 23 al 32 %, además de lisina y triptófano (Diouf, 2013) y compuestos fenólicos (Londonkar y Awanti 2015).

En México se produce principalmente en los estados de Campeche, Yucatán y Tabasco. En el estado de Tabasco su superficie sembrada es de 226 ha, se siembra en la subregión Centro y Chontalpa, con rendimiento promedio de 0.67 t ha^{-1} (SIAP 2013).

2.2.- Elementos esenciales

De acuerdo con Arnon y Stout (1939) un elemento es esencial, si se requiere para:

- 1.- Que la planta pueda completar su ciclo de vida.
- 2.- La función del elemento no puede ser sustituido por otros elementos.
- 3.- El elemento debe estar involucrado de forma directa en una función metabólica de la planta.

Dentro de los micronutrientes que necesita una planta para su desarrollo se encuentra el Fe y Zn, los cuales se requieren en muchos procesos metabólicos (Eyal 2007).

2.3.- El hierro en la planta

El hierro (Fe) es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, por lo que se encuentra en la mayoría de los suelos (Schmidt 2003). Es esencial para las plantas, y se absorbe por las raíces y hojas como ión ferroso (Fe^{2+}), que en la planta se transforma en ion férrico (Fe^{3+}) (Marschner 2012). Forma parte de las metalo-proteínas, es un catalizador de los procesos respiratorios y forma parte de la clorofila (Yin *et al.* 2012). Las estrategias de las plantas para su adsorción son (Garate y Bonilla 2013):

1) En las dicotiledóneas y monocotiledóneas, no gramíneas. cuando se tienen deficiencias, las raíces incrementan el poder de reducción de Fe, disminuyendo el pH y acidificando la rizósfera de la raíz para incrementar la reducción del Fe III a Fe II, mediante la enzima Fe III-quelato reductasa, favoreciendo su solubilidad y absorción.

2) En las gramíneas, se liberan fitosideróforos en condiciones de deficiencia de Fe, los cuales son aminoácidos no proteínogenicos que quelatan el Fe III presente en el suelo (Fe III-fitosideróforos).

2.4.- El zinc en la planta

El zinc (Zn) es uno de los elementos más importantes en las plantas, participa en las actividades bioquímicas, como agente de activación de vitaminas, la respiración celular, producción de clorofila, cataliza la reacción redox, la aceleración de la oxidación de las proteínas y la síntesis de las auxinas (Yin *et al.* 2012). Se absorbe por las raíces y la epidermis foliar como ion bivalente (Zn^{2+}) (Marschner 2012). Se encuentra implicado en la síntesis del triptófano y estimula diversas actividades enzimáticas, en el metabolismo del nitrógeno y en la formación de pigmentos flavonoides (Garate y Bonilla 2013).

2.5.- El hierro en el ser humano

El Fe es un elemento esencial para la vida, participa en todos los procesos de oxidación-reducción y es parte esencial en el ciclo de Krebs, en la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos, además de intervenir en el crecimiento, desarrollo y funcionamiento del

organismo (Forrellat-Barrios *et al.* 2005). La carencia de este elemento es un problema de salud en los países en desarrollo (White y Broadley 2005), que afecta principalmente a la población infantil (WHO 2001, Chúa 2014).

Durante toda la vida se requiere la ingestión de Fe, de forma particular en la infancia se requiere la ingestión de altos contenidos para el desarrollo y crecimiento celular (Forrellat-Barrios *et al.* 2005). La más importante función en el cuerpo humano es el transporte de oxígeno, además de participar en las reacciones enzimáticas vinculadas con la respiración intracelular y el transporte de electrones (Chúa 2014), también induce la síntesis de anticuerpos y mejora la inmunidad (Yin *et al.* 2012). La concentración de Fe en una persona adulta es de 4 a 5 g (Alarcón-Corredor 2009), con requerimientos diarios de 8 a 18 mg (White y Broadley 2005).

2.6.- El zinc en el ser humano

El Zn es un microelemento esencial, para la salud y nutrición humana, participa en el metabolismo a nivel celular (Hambidge 2000), su mayor concentración se encuentra en el hígado, páncreas, riñones, huesos y músculos. Participa en funciones bioquímicas y hormonales de varios sistemas endócrinos, estando involucrado en la modulación de la secreción de prolactina y en la secreción y acción de la insulina (Torres y Bahr 2004), además interviene en los procesos bioquímicos como la respiración celular, la reproducción del ADN y ARN, el mantenimiento de la membrana celular y en la eliminación de radicales libres (Rubio *et al.* 2007). Es esencial para la síntesis y degradación de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos,

promueve el desarrollo intelectual de los niños, acelera el crecimiento de los adolescentes, afecta el paladar, el apetito y la fertilidad masculina (Yin *et al.* 2012). Su concentración en el cuerpo humano varía de 1.4 a 2.3 g (Alarcón-Corredor 2009), con recomendaciones de ingesta diarias de 3 a 12 mg (Rubio *et al.* 2007).

2.7.- Actividad antioxidante

La actividad antioxidante depende de la naturaleza y la concentración de los antioxidantes presentes en un alimento (Gutiérrez-Zavala *et al.* 2007). La actividad antioxidante es la capacidad que tienen algunos compuestos de evitar el daño causado por especies reactivas de oxígeno (Gómez-Galera *et al.* 2009). Los antioxidantes provienen de la vitamina E, C, β caroteno, cobre (Cu), Se, Fe, Zn, polifenoles, licopenos, flavonoides, quercitina, catequinas y taninos (Dragsted 2008). Estos compuestos retrasan el proceso de envejecimiento en el ser humano, neutralizan los radicales libres, y combaten la degeneración y muerte celular (Gutiérrez-Zavala *et al.* 2007). Las principales especies oxidantes son anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (HO) (Haleng *et al.* 2007).

El frijol caupí aporta proteínas, minerales, vitaminas y carbohidratos, además de compuestos que afectan la capacidad antioxidante, como el ácido fítico e inhibidores de tripsina (Sinha y Kawatra 2003). Al respecto, Iniestra-González *et al.* (2005) encontró diferencias en la actividad antioxidante de variedades de frijol, debido a la concentración de ácido fítico y la concentración de taninos.

2.8.- Radicales libres

Los radicales libres se forman por un desequilibrio entre las generaciones de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Ahmad *et al.* 2016), estos radicales recorren el organismo captando un electrón de las moléculas estables (Gutiérrez-Zavala *et al.* 2007). El constante incremento de los radicales libres en las células crea las condiciones para el estrés oxidativo, en el cual los radicales libres oxidan las paredes de los vasos sanguíneos, las proteínas, el ADN, carbohidratos y lípidos (Yashin *et al.* 2013), causando la oxidación y alterando el metabolismo de enzimas protectoras (Segura-Campos *et al.* 2013).

La acumulación de moléculas reactivas de oxígeno y radicales libres, causan cambios patológicos en el organismo (Yashin *et al.* 2013), como la diabetes, el cáncer y arterosclerosis (Zhang *et al.* 2009). Para neutralizar los radicales que crean el estrés oxidativo, se puede recurrir a la ingesta de productos con propiedades antioxidantes (Gutiérrez-Zavala *et al.* 2007), como las verduras, frutas, bayas, granos, jugos y otros alimentos (Sies 1993).

2.9.- Biofortificación

La biofortificación es el proceso mediante el que se incrementa la concentración de elementos esenciales en la parte comestible de los vegetales (White y Broadley 2005). La cual se define como el proceso mediante el cual los cultivos mejoran sus características agronómicas y nivel nutricional (Pachón *et al.* 2010). Que es una estrategia biológica, cuyo objetivo es incrementar los micronutrientes de las partes comestibles de las plantas, de forma segura y

eficaz para aliviar la malnutrición en áreas deficientes (Zimmermann *et al.* 2005, Yin *et al.* 2012).

Las primeras investigaciones sobre biofortificación de Fe y Zn se realizaron en maíz, donde se observó aumento en la concentración de estos microelementos en el grano (Oikeh *et al.* 2003). Mientras que en arroz biofortificado con Fe se ha reportado el incremento de hasta cinco veces su contenido en el grano (Haas *et al.* 2005), además de que se observó un incremento en la sangre de mujeres anémicas que consumieron el grano (Stein *et al.* 2008). En tanto que en frijol se ha reportado su duplicación en el grano (Chaveco-Pérez *et al.* 2007).

2.10.- Quelatos

Las plantas necesitan de los microelementos, los cuales pueden suministrarse en forma iónica y quelatada (Piaggese 2004). Un quelato es una molécula, en la que un ión metálico (Fe, Cu, Zn, Mn u otro) se une a una molécula orgánica (agente quelante) a través de más de un enlace de coordinación, de manera que el ión cambia sus propiedades y aumenta su propiedad de disolución (Figura 1) (Garate y Bonilla 2013). El alto contenido de carbonato de calcio activo y compuestos insolubles (óxidos, hidróxidos, fosfatos y carbonatos) limitan la disponibilidad de elementos como el Fe, Mn, Zn y B (Marschner 2012). La aplicación foliar y radicular de microelementos quelatados hace que los microelementos estén protegidos de la insolubilidad a través del enlace con la molécula quelatante. Para tratamientos radiculares se encuentran los EDDHA y EDDHSA, utilizados para quelatar el Fe, dada su alta afinidad y su

capacidad para estabilizar las moléculas; para aplicaciones foliares, se utiliza el EDTA, HEDTA, DTPA y LSA (Piaggese 2004).

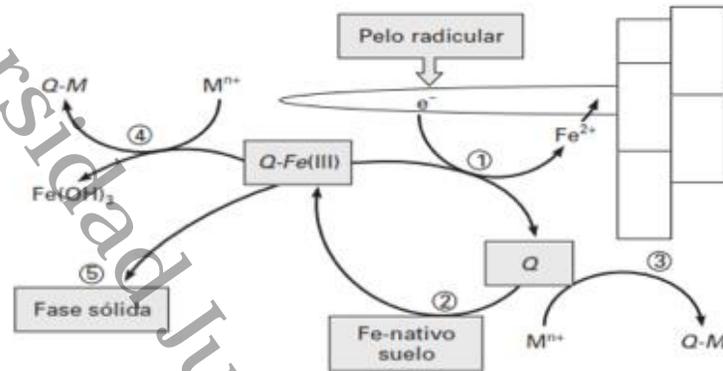


Figura 1. Comportamiento del quelato de Fe y su absorción en la raíz de las plantas (Garate y Bonilla 2013).

2.11.- Sulfatos

Son un componente esencial de la materia viva, que se disuelven de forma fácil en el agua, los sulfatos son térmicamente más estables que los nitratos, ya que pueden reaccionar con el carbonato de calcio (CaCO₃), formando compuestos de baja solubilidad (Heldt *et al.* 2011). Al comparar dosis de fertilización con quelatos y sulfatos en maíz, Ortega-Blu y Molina (2007) encontraron que es más barato aplicar sulfatos.

III.- OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general

Evaluar el efecto de la biofortificación con quelatos de hierro (Fe-EDDHA) y zinc (Zn-EDTA), y sulfato ferroso (FeSO_4) y sulfato de zinc (ZnSO_4) en el rendimiento, contenido mineral y capacidad antioxidante de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp).

3.2.- Objetivos específicos

- 1) Determinar el contenido mineral del grano de frijol caupí biofortificado con diferentes dosis de quelato y sulfato de hierro y zinc.
- 2) Determinar la capacidad antioxidante del grano seco de frijol caupí biofortificado con quelato y sulfato de hierro y zinc.
- 3) Determinar el rendimiento de frijol caupí biofortificado con diferentes dosis de quelato y sulfato de hierro y zinc.

3.3.- Hipótesis

La biofortificación de frijol caupí con quelato y sulfato de hierro y zinc impacta en el rendimiento, contenido mineral y la capacidad antioxidante del grano.

IV.- LITERATURA CITADA

- Aguirre-Arenas J, Chávez Villasana A, Medina Carranza BE, García Villegas EA, Carrasco Quintero MR, Guarneros Soto N (2013) Impacto del suministro de harina de maíz fortificada en la anemia de preescolares de zonas indígenas de México. *Gaceta Sanitaria* 27: 541-544.
- Ahmad N, Zuo Y, Lu X, Anwar F, Hameed S (2016) Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. *Food Chemistry* 190: 80-89.
- Alarcón-Corredor OM (2009) Los elementos traza. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa* 4: 107-124.
- Amarakoon D, McPhee K, Thavarajah P (2012) Iron-, zinc-, and magnesium-rich field peas (*Pisum sativum* L.) with naturally low phytic acid: A potential food-based solution to global micronutrient malnutrition. *Journal of Food Composition and Analysis* 27: 8-13.
- Arnon DI, Stout PR (1939) The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14: 371-375.
- Becvort-Azurra A, Fuentes-Lara LO, Benavides-Mendoza A, Ramírez H, Robledo-Torres V, de las Nieves Rodríguez-Mendoza M (2012) Aplicación de selenio en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. *Terra Latinoamericana* 30: 291-301.
- Boukar O, Bhattacharjee R, Fatokun C, Kumar PL, Gueye B (2013) Cowpea. In: Singh M, Upadhyaya HD, Bisht IS. (Eds). *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*. First edition. Elsevier. pp: 137-150.
- Broadey 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. Academic press. pp: 191-243.
- Chaveco-Pérez O, Padrón M, Permuy N, Ruiz V, Pachón H, Beebe S, Selva L. (2007) Biofortificación del frijol común con hierro y zinc: una alternativa

- en la estrategia de diversificación alimentaria en Cuba. AgroSalud, Cali, Colombia. 1p. Disponible en https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/57849/poster_chaveco_congreso_cuba.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chúa C (2013) El hierro en la nutrición humana. Programa de conferencias medicas. Disponible en: <http://medpharma.com.gt/home/el-hierro-en-la-nutricion-humana-dr-carlos-chua-msc-ma/>
- Diouf D (2013) Recent advances in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] “omics” research for genetic improvement. African Journal of biotechnology 10: 2803-2810.
- Dragsted L (2008) Biomarkers of exposure to vitamins A, C, and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. European Journal of Nutrition 47: 3-18.
- Ehlers JD, Hall AE (1997) Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Field Crops Research 53: 187-204.
- Eyal RI (2007) Microelementos en la agricultura. Red hidropinia, Boletín 38: 2-11.
- Forrellat Barrios M, Fernández Delgado N, Hernández Ramírez P (2005) Nuevos conocimientos sobre el metabolismo del hierro. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia 21(3): 1-7.
- Gárate A, Bonilla I (2013) Nutrición mineral y producción vegetal. En: Azcón-Bieto J, Talón M. (Eds.). Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill Interamericana de España. pp: 143-164.
- Gómez-Galera S, Rojas E, Sudhakar D, Zhu C, Pelacho AM, Capell T, Christou P (2009) Critical evaluation of strategies for mineral fortification of staple food crops. Transgenic Research 19: 165-180.
- Gupta P, Singh R, Malhotra S, Boora K, Singal H (2014) Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seed proteins: heterogeneity in total proteins and protein fractions. Legume Research: An International Journal 37(1): 62-67.

- Gutiérrez-Zavala A, Ledesma Rivero L, García García I, Grajales Castillejos O (2007) Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública* 33: 1-7.
- Haas JD, Beard JL, Murray-Kolb LE, del Mundo AM, Felix A, Gregorio GB (2005) Iron-biofortified rice improves the iron stores of nonanemic Filipino women. *The Journal of Nutrition* 135: 2823-2830.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP (2007) Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège* 62: 628-638.
- Hambidge M. (2000) Human zinc deficiency. *The Journal of Nutrition* 130: 1344S-1349S.
- Heldt HW, Piechulla B, Heldt F (2011) *Plant Biochemistry*, 4th edition. San Diego CA. 323p.
- Huang Y, Yuan L, Yin X (2012) Biofortification to struggle against iron deficiency. In: Yin X, Yuan L (Eds.). *Phytoremediation and biofortification*. Springer, Netherlands. pp: 59-74.
- Iniestra-González JL, Ibarra-Pérez FJ, Guzmán NER, Infante JAG, Laredo RFG (2005) Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia* 39: 603-610.
- Lagunes-Espinoza LdC, Gallardo-López F, Becerril-Hernández H, Bolaños-Aguilar E (2008) Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14: 13-21.
- Londonkar LR, Awanti B (2015) Antioxidant activity of methanolic extract of *Vigna unguiculata*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science* 6(3): 538-544.
- Mayer JE, Pfeiffer WH, Beyer P (2008) Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Current Opinion in Plant Biology* 11: 166-170.
- Miquilena E, Moros AH (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.
- Oikeh SO, Menkir A, Maziya-Dixon B, Welch R, Glahn RP (2003) Assessment of concentrations of iron and zinc and bioavailable iron in grains of early-maturing tropical maize varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 3688-3694.
- Ortega-Blu R, Molina-Roco M (2007) Comparison between sulfates and chelated compounds as sources of zinc and iron in calcareous soils. Agrociencia 41: 491-502.
- Pachón H (2010) El impacto nutricional de cultivos biofortificados o cultivos con mayor calidad nutricional. AgroSaludo. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 12p.
- Piaggese A (2004) Los Microelementos en la Nutrición Vegetal. VELAGRO, SpA. Luciano Italia. 72p.
- Rubio C, González Weller D, Martín-Izquierdo R, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A (2007) El zinc: oligoelemento esencial. Nutrición Hospitalaria 22: 101-107.
- Schmidt W (2003) Iron solutions: acquisition strategies and signaling pathways in plants. Trends in Plant Science 8: 188-193.
- Segura-Campos M, Ruiz-Ruiz J, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D (2013) Antioxidant activity of *Vigna unguiculata* L. walp and hard-to-cook *Phaseolus vulgaris* L. protein hydrolysates. CyTA-Journal of Food 11: 208-215.
- SIAP (2013) Servicio de información Agrícola y Pecuaria. Cierre de la producción agrícola por estado. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Sies H (1993) Strategies of antioxidant defense. EJB Reviews. Springer Berlin Heidelberg. pp:101-107.
- Singh B (2002) Cowpea genetics and breeding. In: Fatokun CA, Tarawali SA, Sing BB, Kormawa PM, Tamó M (Eds.). Challenges and opportunities for

- enhancing sustainable cowpea production. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria: pp: 3-13.
- Sinha R, Kawatra A (2003) Effect of processing on phytic acid and polyphenol contents of cowpeas [*Vigna unguiculata* (L) Walp]. *Plant Foods Human Nutrition* 58: 1-8.
- Smoleń S, Kowalska I, Sady W (2014) Assessment of biofortification with iodine and selenium of lettuce cultivated in the NFT hydroponic system. *Scientia Horticulturae* 166: 9-16.
- Stein AJ (2010) Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant Soil* 335: 133-154.
- Stein AJ, Meenakshi JV, Qaim M, Nestel P, Sachdev HPS, Bhutta ZA (2008) Potential impacts of iron biofortification in India. *Social Science & Medicine* 66: 1797-1808.
- Timko MP, Singh B (2008) Cowpea, a multifunctional legume. In: Moore PH, Ming R (Eds.). *Genomics of tropical crop plants*. Springer. pp: 227-258.
- Torres-Acosta R, Bahr-Valcarcel P (2004) El zinc: la chispa de la vida. *Revista Cubana de Pediatría* 76: 1561-3119.
- White PJ, Broadley MR (2005) Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science* 10: 586-593.
- WHO (2001) Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: A guide for programme managers. World Health Organization. USA. 114p.
- Yashin A, Yashin Y, Wang JY, Nemzer B (2013) Antioxidant and antiradical activity of coffee. *Antioxidants* 2: 230-245.
- 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.
- Zhang SB, Wang Z, Xu SY, Gao XF (2009) Purification and characterization of a radical scavenging peptide from rapeseed protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists Society* 86: 959-966.
- Zhao FJ, McGrath SP (2009) Biofortification and phytoremediation. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 373-380.

Zia-Ul-Haq M, Ahmad S, Amarowicz R, De Feo V (2013) Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules* 18: 2005-2017.

Zimmermann MB, Chaouki N, Hurrell RF (2005) Iron deficiency due to consumption of a habitual diet low in bioavailable iron: a longitudinal cohort study in Moroccan children. *The American Journal of Clinical nutrition* 81: 115-121.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

V.- CAPÍTULO I.

CONTENIDO MINERAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE FRIJOL CAUPÍ BIOFORTIFICADO CON SULFATO DE HIERRO Y ZINC

Mineral content and antioxidant activity of cowpea bean biofortified with iron and zinc sulfate

M. Guillén-Molina¹, E. de-la-Cruz-Lázaro¹, C. Márquez-Quiroz^{1*}, E. Sánchez-Chávez², J. R. Velázquez-Martínez¹

¹División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa Km 25, Villahermosa, Tabasco, México.

²Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Delicias, Chihuahua, México.

*Email: cesar.marquez@ujat.mx

RESUMEN

Incrementar el contenido de hierro (Fe) y zinc (Zn) en los cultivos básicos es un desafío mundial, debido a la deficiencia en gran parte de la población. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de dosis de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de sulfato de zinc (ZnSO_4), en combinación con dosis de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de sulfato ferroso (FeSO_4), sobre el contenido mineral y la actividad antioxidante de semillas de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp). Se determinó el rendimiento, el contenido mineral y la actividad antioxidante en la semilla. La dosis 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 incrementó el contenido de Fe y Zn en un 36.6 % y 11.0 % de proteína cruda en la semilla con respecto al testigo. Las dosis de 25 - 0 y 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 tuvieron la mayor actividad antioxidante con 35.2 y 33.0 %. La biofortificación de frijol caupí con ZnSO_4 y FeSO_4 incrementó el contenido de Fe y Zn, el contenido de proteína y los compuestos bioactivos en la semilla, que puede proporcionar un aporte de microelementos a la ingesta diaria.

Palabras clave: Dosis; DPPH; Fenoles totales; Rendimiento; *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

It a global challenge to increase the iron (Fe) and zinc (Zn) content in staple crops due to high rates of deficiency in the population. The objective of this study was to evaluate the effect of application of doses of 0, 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of zinc sulfate (ZnSO_4), in combined with dose 0, 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of ferrous sulfate (FeSO_4) on the mineral content and antioxidant activity of

cowpea seeds (*Vigna unguiculata* Walp L.). Yield, mineral content and antioxidant activity in the cowpea seed were determined. The doses 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ of ZnSO_4 and FeSO_4 increased the Fe and Zn content in a 36.6 % and 11.0 % crude protein compared with the control. The doses 25 - 0 and 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ ZnSO_4 and FeSO_4 had the highest antioxidant activity with 35.2 and 33.0 %. Biofortification of cowpea bean with ZnSO_4 and FeSO_4 increases the Fe and Zn content, protein content and bioactive compounds in seed, which can provided a contribution of microelements on daily intake.

Key words: Doses; DPPH; Total phenols; Yield; *Vigna unguiculata*.

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son el segundo alimento más importante para el consumo humano, aportan el doble de proteína que los cereales y proveen elementos minerales, ácidos grasos, aminoácidos y vitaminas (Granito *et al.* 2010; Miquilena y Moros 2012). El frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp), es una fabácea de gran importancia en la alimentación humana (Citadin *et al.* 2011), de la cual se consumen las hojas tiernas, los brotes inmaduros, las semillas inmaduras y secas (Zia-UI-Haq *et al.* 2013). En México, el frijol caupí se guisa en platillos tradicionales como tamales, tortillas y sopas (Márquez-Quiroz *et al.* 2015).

La desnutrición mineral es un desafío mundial (White y Broadley 2009), por ejemplo la deficiencia de hierro (Fe) y zinc (Zn) genera problemas de salud (White y Broadley 2005), que afecta a más de 2 000 millones de habitantes en

el mundo (Amarakoon *et al.* 2012). El Fe participa en el transporte de oxígeno en la sangre, en las reacciones enzimáticas de la respiración celular, el transporte de electrones e induce la síntesis de anticuerpos (Chúa 2014). Por otra parte, el Zn participa en el metabolismo celular, la reproducción de ADN y ARN, el mantenimiento de la membrana celular y la eliminación de radicales libres (Rubio *et al.* 2007).

La biofortificación es una estrategia para incrementar el contenido de elementos esenciales en la parte comestible de los cultivos (Zimmermann *et al.* 2005). Diversas investigaciones se han enfocado en el efecto de la aplicación exógena de sulfato ferroso (FeSO_4) y sulfato de zinc (ZnSO_4) en cereales como el arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), y leguminosas como el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), con el objetivo de incrementar el contenido de Fe y Zn en el grano o semilla (Mayer *et al.* 2008, Yin *et al.* 2012). Mientras que otros estudios se han enfocado en incrementar el contenido de antioxidantes, debido a su importancia en la defensa del organismo humano y la capacidad de inhibir el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (Enujiugha *et al.* 2012). Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la aplicación de sulfato de zinc (ZnSO_4) en combinación con sulfato ferroso (FeSO_4) en el rendimiento, contenido mineral y actividad antioxidante del frijol caupí.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó bajo un sistema protegido en la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en el municipio de Centro, Tabasco, México; en las coordenadas

17°46' 56" N y 92° 57' 28" O, a una altitud de 21 m sobre el nivel del mar, con temperatura promedio de 37 °C (CONAGUA 2016).

Se utilizaron semillas de frijol caupí cv de "Castilla". La siembra se realizó el 1 de abril de 2014, en bolsas de polietileno negro, de 30 cm de ancho por 35 cm alto, llenadas con tepetzil (sustrato inerte). Se utilizó una densidad de 44,444 plantas por hectárea. Durante el ciclo del cultivo se aplicó la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (1950) con 14 mM de NO_3^- , 1 mM de H_2PO_4^- , 4 mM de SO_4^{2-} , 6 mM de K^+ , 8 mM de Ca_2^+ y 4 mM de Mg_2^+ . Para suministrar los microelementos en la solución nutritiva se utilizó el producto TradeCorp AZ®. El pH de la solución se ajustó entre 5.5 y 6.0 con ácido sulfúrico. El agua de riego se clasificó con baja salinidad y bajo contenido de sodio ($\text{C}_1 \text{ S}_1$); C.E.:1:3 dS m^{-1} , pH: 7.0; cationes (mM L^{-1}) $\text{Ca}^{2+} = 4.6$, $\text{Mg}^{2+} = 1.3$, $\text{K}^+ = 0.2$, $\text{Na}^+ = 3.0$ y aniones (mM L^{-1}): $\text{HCO}_3^- = 4.6$, $\text{Cl}^- = 4.0$ y $\text{SO}_4^{2-} = 0.0$. La aplicación de las dosis se realizó de forma manual, iniciando con un riego diario de 250 mL^{-1} a los cinco días después de la germinación hasta los 20 días, 500 ml del día 21 al 40, y 1000 mL^{-1} del día 41 hasta finalizar el ciclo, además de un aparte de 2 L de agua cada ocho días para lavar las sales.

Los tratamientos se formaron con la aplicación de sulfato de zinc (ZnSO_4) y sulfato ferroso (FeSO_4) en dosis de 0, 25, 50 y 100 mM L^{-1} , con las combinaciones de las dosis de sulfato de hierro y zinc se formaron 16 tratamientos. Las aplicaciones de las dosis de FeSO_4 y ZnSO_4 se realizó de forma manual cada tercer día, a partir del día 21 hasta los 90 días después de la siembra (dds). El manejo fitosanitario del cultivo se realizó con la aplicación

del insecticida Karate[®] (Lambda- cihalotrina) para el control de gusano soldado y el sulfato de cobre (Sulfacob 25[®]) para el control de antracnosis.

Las variables evaluadas fueron número de vainas por planta, número de semillas por vaina, peso de 100 semillas, rendimiento total, contenido mineral, contenido de proteína cruda, fenoles totales y actividad antioxidante. El número de vainas, semillas y peso de 100 semillas se evaluó después de la cosecha, el peso se registró en una balanza digital (Adventurer Pro AV4101). El rendimiento total se calculó por planta de acuerdo al peso de la semilla de cada vaina por planta.

Para determinar el contenido mineral se recolectó la tercera y cuarta vaina, las cuales se colocaron en bolsas de papel y posteriormente se molieron en un molino para granos inoxidable marca Krups Modelo (GX4100), para luego guardarlas en bolsas de plástico para su posterior análisis. El nitrógeno orgánico (N) se cuantificó por el método Micro-Kjeldahl (Mills y Jones 1996). El contenido de N se multiplicó por el factor de conversión de 6.25 de la AOAC (2002), para obtener el contenido de proteína cruda. El fósforo (P) se determinó, por el método colorimétrico de vanadomolibdato en un espectrofotómetro marca Genesis 10S UV-Vis a 430 nm. La determinación del potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), hierro (Fe) y zinc (Zn) se realizó por espectrofotometría de absorción atómica en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo iCE[™] 3000 series de acuerdo a la metodología de la AOAC (2002).

La extracción de compuestos antioxidantes se realizó de acuerdo con Xu y Chang (2007), para lo cual se pesaron 0.2 g de semillas molidas de frijol caupí,

para luego añadir 10 ml de la mezcla de solvente acetona – agua (7:3) y agitar por 30 min en un agitador orbital (Orbit- shaker 3520). Transcurrido el tiempo se centrifugó a 500 rpm a 4 °C por 5 min en una centrifuga Hermle modelo Z323K, para luego recuperar el sobrenadante, mientras que el precipitado se sometió a una segunda extracción filtrada en un papel filtro marca Whatman del número 1, y combinar el sobrenadante con el filtrado.

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu (Deng *et al.* 2012). Para lo cual a 0.5 ml de extracción acetónica, se le añadieron 2.5 ml de la dilución Folin-Ciocalteu en agua (1:10) y 2 ml de Na₂CO₃, para luego dejar reposar la mezcla por una hora en oscuridad. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro marca Rayleigh UV 1800 a 760 nm. La curva de calibración se realizó de 10 a 100 mg ml⁻¹ con ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG g⁻¹).

La actividad antioxidante se determinó con la metodología de Brand-Williams *et al.* (1995). A 200 µl de la extracción acetónica se le añadieron 1800 µl de solución de DPPH (2,2- diphenyl -1- picrylhydrazyl) a concentración de 125 µM disuelto en metanol al 80 % (metanol – agua), para luego dejar reposar en oscuridad por 60 min y medir la absorbancia (A_{muestra}) en un espectrofotómetro marca Rayleigh UV 1800 a 517 nm. Como control (A_{control}) se utilizó metanol con DPPH. La actividad antioxidante se expresó en porcentaje de inhibición de DPPH y se calculó con la siguiente ecuación.

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

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y comparación de medias DMS a un $\alpha=0.05$, los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS 9.2 para Windows (SAS Institute, 2009).

RESULTADOS

Para el número de vainas se encontraron diferencias estadísticas entre dosis de ZnSO_4 y FeSO_4 ($p<0.05$), oscilando de 6.4 a 8.6 vainas por planta. Observándose un incremento en el número de vainas del 29.6 % para las dosis de 25 - 50 y 50 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 con respecto al testigo (0 - 0 $\mu\text{M L}^{-1}$), hasta un 34.3 % en la dosis 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 (Tabla 1). Para el número de semillas por planta se observaron valores entre 67.2 y 110.3 semillas, en los que se observaron diferencias significativas entre las dosis de ZnSO_4 y FeSO_4 , presentando el mayor número de semillas las dosis 0 - 100, 50 - 25 y 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 . El peso de 100 semillas tuvo valores entre 11.6 y 15.1 g, presentando el mayor peso la dosis la dosis 100 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 . En lo referente al rendimiento, se observaron diferencias significativas entre dosis, presentando el mayor rendimiento la dosis 100 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 con 14.5 g planta⁻¹ y el menor rendimiento la dosis 50 - 0 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 con 11.1 g planta⁻¹.

Tabla 1. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de sulfato de Zn y Fe sobre el rendimiento en plantas de frijol caupí.

Fuente	Dosis ($\mu\text{M L}^{-1}$)	RGP (g)	NvP	NSeP	P100s
ZnSO ₄ *FeSO ₄	0 – 0	9.6 b	6.4 b	67.2 c	13.4 abc
	0 – 25	12.7 ab	8.6 a	105.3 a	13.5 abc
	0 – 50	12.6 ab	7.6 ab	93.3 abc	13.6 abc
	0 – 100	13.4 ab	8.0 ab	110.3 a	11.9 bc
	25 – 0	10.2 ab	7.6 ab	81.0 abc	11.6 c
	25 – 25	11.3 ab	6.7 ab	78.5 abc	12.3 bc
	25 – 50	14.4 a	8.3 ab	99.6 ab	13.7 abc
	25 – 100	13.4 ab	8.0 ab	93.6 abc	13.9 abc
	50 – 0	11.1 ab	6.8 ab	83.3 abc	13.5 abc
	50 – 25	13.6 ab	8.3 ab	108.3 a	13.6 abc
	50 – 50	13.2 ab	7.3 ab	89.0 abc	14.9 a
	50 – 100	13.2 ab	7.6 ab	100.0 ab	13.9 abc
	100 – 0	12.8 ab	7.6 ab	97.6 ab	13.1 abc
	100 – 25	12.9 ab	7.0 ab	93.3 abc	15.1 a
	100 – 50	14.5 a	7.6 ab	101.6 ab	14.3 ab
	100 – 100	11.9 ab	7.0 ab	88.3 abc	13.5 abc

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha= 0.05$), RGP = rendimiento de grano por planta, NvP = número de vaina, NSeP = número de semilla por planta, P100s = peso de 100 semillas.

Para el contenido de N orgánico se observaron diferencia significativas ($p<0.05$) entre dosis con valores que oscilaron entre 3 180 y 3 930 mg 100 g⁻¹ de muestra seca. Presentando el mayor contenido de N las dosis 100 - 100, 0 - 50 y 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO₄ y FeSO₄. Mientras que el P osciló entre 50 y 80 mg 100 g⁻¹ de materia seca, observándose el mayor contenido en las dosis 0 - 25, 25 - 25, 25 - 50, 50 - 0 y 50 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO₄ y FeSO₄. El contenido de K osciló de 1 180 a 1 320 mg 100 g⁻¹ de muestra, en la cual destaca la dosis 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO₄ y FeSO₄ con 1 320 mg 100 g⁻¹, mientras que dosis con el menor contenido de K fueron 50 - 100 y 100 - 0 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO₄ y FeSO₄ con 1 210 mg 100 g⁻¹.

Tabla 2. Contenido mineral en semilla de frijol caupí biofortificadas con diferentes dosis de sulfato de Zn y Fe.

		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn
Fuente	Dosis ($\mu\text{M L}^{-1}$)	mg/100 g							
ZnSO ₄ * FeSO ₄	0 – 0	3 540 dc	70 ab	1 180 d	110 b	130 b	3.41 gh	4.96 f	0.94 bc
	0 – 25	3 930 a	80 a	1 260 abc	90 c	140 b	4.66 a	5.58 a	1.19 a
	0 – 50	3 660 b	70 ab	1 230 bcd	110 b	150 b	4.13 b	5.59 a	0.97 bc
	0 – 100	3 300 g	70 ab	1 240 bcd	110 b	150 b	3.79 de	5.15 def	1.02 b
	25 – 0	3 430 def	70 ab	1 270 ab	120 ab	140 b	3.27 hi	5.44 ab	0.97 bc
	25 – 25	3 270 gh	80 a	1 320 a	110 b	150 b	3.49 g	5.29 bcd	1.04 b
	25 – 50	3 440 ed	80 a	1 200 dc	120 ab	140 b	3.57 fg	5.18 cde	1.01 bc
	25 - 100	3 350 fg	70 ab	1 220 bcd	130 a	140 b	3.56 fg	5.41 abc	1.01 bc
	50 – 0	3 350 efg	80 a	1 230 bcd	110 b	140 b	3.18 i	5.08 def	0.89 c
	50 – 25	3 180 h	80 a	1 260 abc	120 ab	140 b	4.03 bc	5.44 ab	1.03 b
	50 – 50	3 360 efg	60 b	1 240 bcd	130 a	140 b	3.76 ef	5.46 ab	0.92 bc
	50 - 100	3 440 ed	50 bc	1 210 bcd	130 a	140 b	3.70 ef	5.30 bcd	0.92 bc
	100 – 0	3 310 g	50 bc	1 210 bcd	120 ab	140 b	3.36 ghi	5.26 bcd	0.95 bc
	100 - 25	3 280 gh	50 bc	1 230 bcd	130 a	140 b	3.82 cde	5.39 abc	0.92 bc
	100 - 50	3 320 fg	50 bc	1 270 ab	120 ab	140 b	3.98 bcd	5.44 ab	1.03 b
	100 - 100	3 610 bc	50 bc	1 230 bcd	100 bc	170 a	3.49 g	5.01 ef	1.02 b

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.05$), N = nitrógeno, P = fósforo, K = potasio, Ca = calcio, Mg = magnesio, Fe = hierro, Zn = zinc, Mn = manganeso.

El Ca osciló entre 90 y 130 mg 100 g⁻¹, con un incremento promedio del 18.1 % en las dosis 25 - 100, 50 - 50, 50 - 100 y 100 - 25 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ con respecto al testigo. El Mg osciló entre 130 y 170 mg 100 g⁻¹ de muestra, presentando la dosis de 100 - 100 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ el mayor contenido de Mg con 170 mg 100 g⁻¹, valor que fue un 30.7 % mayor que el contenido que tuvo la dosis testigo. El contenido de Mn tuvo valores entre 0.89 y 1.19 mg 100 g⁻¹, presentando la dosis 0 - 25 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ el mayor contenido de Mg.

El contenido de Fe en la semilla osciló de 3.18 a 4.66 mg 100 g⁻¹ de muestra, presentando la dosis 0 - 25 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ el mayor contenido, mientras que la dosis 50 - 0 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ tuvo el menor contenido de Fe. En tanto que el contenido de Zn fue de 4.96 a 5.59 mg 100 g⁻¹, presentando la dosis 0 - 25 y 0 - 50 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ los mayores valores, los cuales fueron superiores en un 12.5 y 12.7 % mayores que los que tuvo la dosis testigo.

El contenido de fenoles totales osciló de 2.31 a 3.01 mg EAG por gramo de muestra, presentando los mayores valores las dosis 25 - 0 y 25 - 25 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ con 2.95 y 3.01 mg EAG, respectivamente (Figura 1). Mientras que la actividad antioxidante osciló de 25.8 a 35.3 % (Figura 2). Presentando la mayor actividad antioxidante las dosis 25 - 0 y 25 - 25 μM L⁻¹ de ZnSO₄ y FeSO₄ con un 35.2 y 33.0 % de reducción de DPPH, respectivamente.

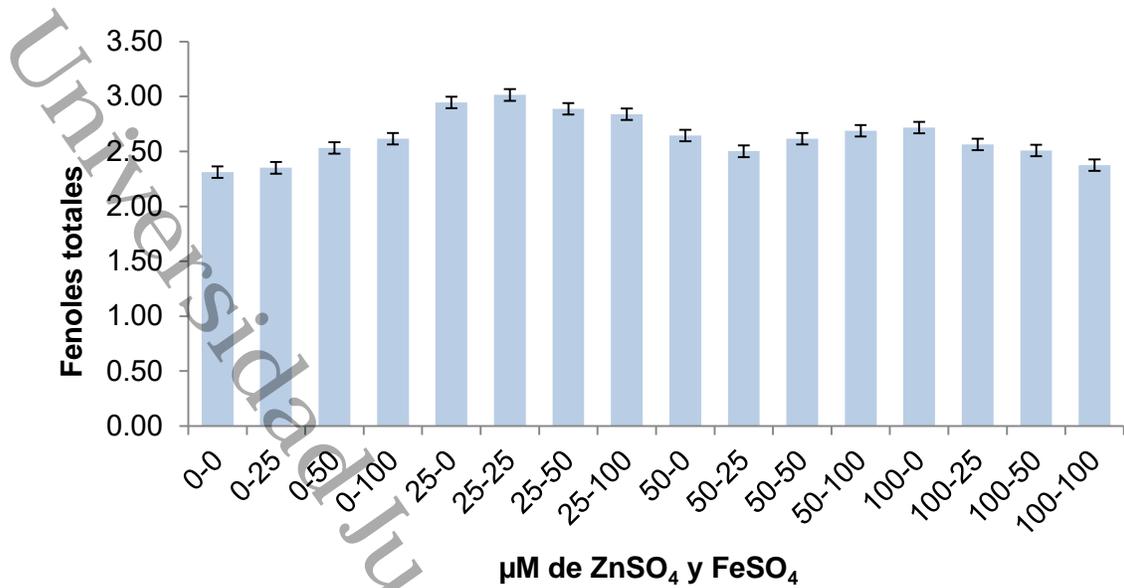


Figura 1. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de sulfatos de Zn y Fe en el contenido de fenoles totales de la semilla de frijol caupí.

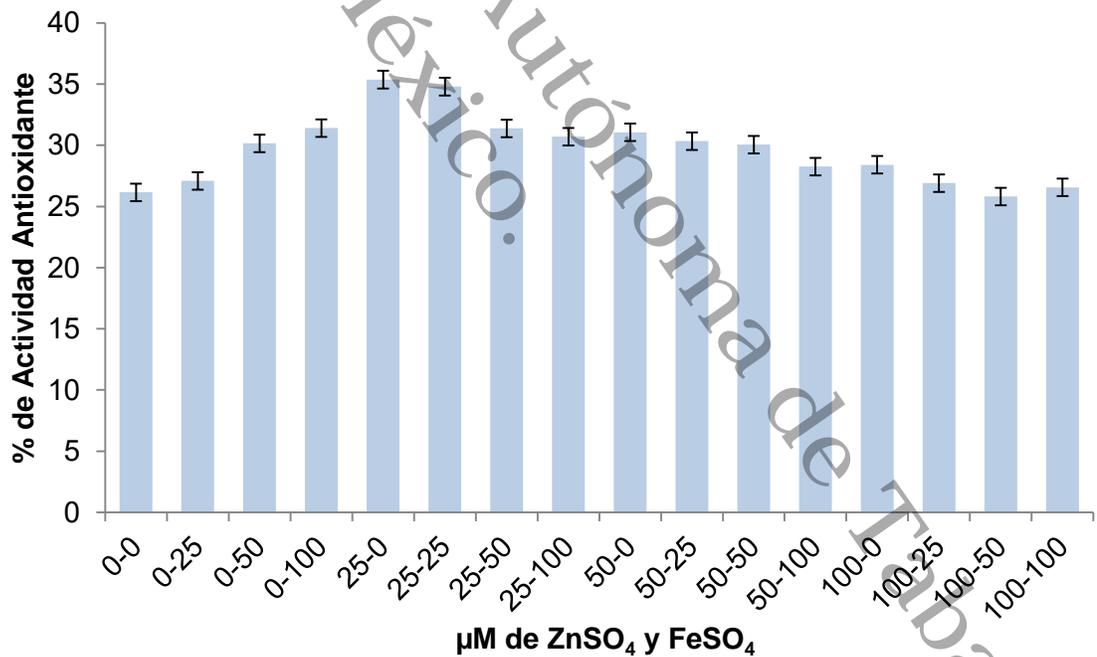


Figura 2. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de sulfatos de Zn y Fe en la actividad antioxidante de la semilla de frijol caupí.

DISCUSIÓN

El número de vainas por planta fue inferior a las 19.5 vainas reportados por Shanko *et al.* (2014). Mientras que el peso de 100 semillas tuvo valores superiores a los 10.6 g reportado por Idahosa *et al.* (2010), superando 14 dosis los 12.2 g reportados por Shanko *et al.* (2014) y cuatro dosis los 13.8 g obtenidos por Nwosu *et al.* (2013), pero sólo la dosis 100-25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 superó a los 15 g reportado por Márquez-Quiroz *et al.* (2015) para frijol caupí biofortificado con sulfato de hierro. El rendimiento promedio obtenido fue mayor que al rendimiento promedio reportado por Apérez-Barrios *et al.* (2011) y el SIAP (2013).

El contenido de N en la semilla de frijol caupí de las dosis 0 - 25, 0 - 50 y 100 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 fue superior a los 3 500 mg 100 g^{-1} reportado por Márquez-Quiroz *et al.* (2015). Mientras que para el contenido de N sólo la dosis 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 superó los 2 740 mg 100 g^{-1} de N reportados por Carvalho *et al.* (2012). En tanto que el contenido de proteína osciló entre 1 980 y 2 450 mg 100 g^{-1} de muestra; al igual que el contenido N, el mayor contenido de proteína lo tuvo la dosis 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 , valor que es superior a lo reportado por Onyeka (2007) y Márquez-Quiroz *et al.* (2015), pero son similares a los valores reportados Frola *et al.* (2008) y Miquilena y Moros (2012). Para el contenido de P se observaron deficiencias de acuerdo a los contenidos de P reportados por Iqbal *et al.* (2006), y Miquilena y Moros (2012), pero son similares a lo reportado por Márquez-Quiroz *et al.* (2015) para frijol caupí biofortificado. Para el contenido de K cuatro dosis superaron los 1 250 mg 100 g^{-1} reportado por Carvalho *et al.* (2012), pero todos

los valores encontrados son inferiores a lo reportado por Miquilena y Moro (2012).

El contenido de Ca en la semilla de frijol caupí tuvo valores superiores a los 50 mg 100 g⁻¹ reportados por Carvalho *et al.* (2012), pero son similares a los valores reportados por Frota *et al.* (2008). De acuerdo con lo reportado Miquilena (2012) y Carvalho *et al.* (2012) los contenidos de Mg obtenidos son similares, pero son inferiores a lo reportado por Márquez-Quiroz *et al.* (2015). El contenido Fe de la semilla fue superior a los 2.6 mg 100 g⁻¹ reportado por Iqbal *et al.* (2006), pero son inferiores a los valores reportados por Márquez-Quiroz (2015) y Carvalho *et al.* (2012). Por otra parte Sida-Arreola *et al.* (2015) al biofortificar frijol con sulfato ferroso, encontraron mayor acumulación de Fe con la dosis de 50 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de FeSO₄, en tanto que en el presente estudio las dosis que tuvieron los mayores contenidos de Fe fueron la 0 - 25 y 0 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO₄ y FeSO₄. El Fe al estar en contacto con el oxígeno genera especies reactivas de oxígeno que inducen daño y muerte celular (Briat *et al.* 2006), por lo que se ha encontrado que al aplicar Fe se incrementa la actividad de enzimas antioxidantes (Sida-Arreola *et al.* 2015).

El contenido de Zn encontrado con la aplicación de algunas dosis fue superior a los reportado por Frota *et al.* (2008), Miquilena y Moros y Carvalho *et a.* (2012). Pero son inferiores a los valores reportados por Márquez-Quiroz *et al.* (2015). Lo cual se puede deber a la época en las que se cultivaron las plantas en el presente estudio (Gupta *et al.* 2016). De acuerdo a Erdal *et al.* (2002) y Hussain *et al.* (2012), las aplicaciones de Zn en trigo, aumenta el contenido de Zn y

disminuye el P. Estas tendencias también se observa en el presente estudio en las dosis altas de Zn, en las que se observa la disminución del P.

Los fenoles son compuestos importantes de las plantas debido a que pueden contribuir de forma directa como antioxidantes (Londonkar y Awanti 2015). El contenido de fenoles encontrado en este estudio es inferior al reportado por Siddhuraju y Becker (2007) y Syakiroh *et al.* (2012) para *Vigna sinensis*. La actividad antioxidante osciló entre 25.82 y 35.37 %, valores que son superiores a lo reportado por Zia-UI-Haq *et al.* (2013) y Siddhuraju y Becker (2007). Al respecto Zia-UI-Haq *et al.* (2013) reportan que el contenido de compuestos antioxidantes varía con el genotipo, las condiciones ambientales, las practicas agronómicas, la época de establecimiento del cultivo, la madurez, el almacenamiento y el disolvente usado para la extracción. Al respecto Sida-Arreola *et al.* (2014) reportan que la actividad antioxidante se incrementó con la aplicación de sulfato de Fe y Zn en dosis de $25 \mu\text{M L}^{-1}$.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la biofortificación es un técnica con la que se puede incrementar el rendimiento y contenido de minerales en la semilla de frijol caupí. La dosis de $0 - 25 \mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 incrementa el número de vainas, semillas, contenido de proteína, Fe, Zn y actividad antioxidante.

LITERATURA CITADA

- Amarakoon D, McPhee K, Thavarajah P (2012) Iron-, zinc-, and magnesium-rich field peas (*Pisum sativum* L.) with naturally low phytic acid: A potential food-based solution to global micronutrient malnutrition. *Journal of Food Composition and Analysis* 27: 8-13.
- AOAC (2002) (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis of the AOAC*. . Washington, DC USA In: Horwitz, W (Ed) *The Association of Official Analytical Chemists*.
- Apáez-Barrios PE, José Alberto S, Rodríguez-González, María Teresa (2011) Crecimiento y rendimiento del frijol chino en función del tipo de espaldera y clima. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13: 307-315.
- Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25-30.
- 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 (2012) Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. *Journal of Food Composition and Analysis* 26: 81-88.
- Citadin CT, Ibrahim AB, Aragão FJL (2011) Genetic engineering in Cowpea (*Vigna unguiculata*): History, status and prospects. *GM Crops* 2: 144-149.
- CONAGUA (2016) (Comisión Nacional del Agua) Resúmenes mensuales de temperatura por entidad federativa. Disponible en: http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=12&Itemid=77. Fecha de consulta 10 de febrero de 2016.
- Chúa C (2014) El hierro en la nutrición humana. *Revista del Colegio de Médicos y Cirujanos de Guatemala* 151: 15-18.

- Deng G-F, Xu X-R, Guo Y-J, Xia E-Q, Li S, Wu S, Chen F, Ling W-H, Li H-B (2012) Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *Journal of Functional Foods* 4: 906-914.
- Enujiugha N V, Talabi Y J, Malomo A S, Olagunju I A (2012) DPPH radical scavenging capacity of phenolic extracts from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). *Food and Nutrition Sciences* 3: 7-13.
- Erdal I, Yilmaz A, Taban S, Eker S, Torun B, Cakmak I (2002) Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. *Journal of Plant Nutrition* 25: 113-127.
- Frota KdMG, Soares RAM, Arêas JAG (2008) Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 470-476.
- Granito M, Valero Y, Zambrano R (2010) Desarrollo de productos horneados a base de leguminosas fermentadas y cereales destinados a la merienda escolar. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 60(1): 85-91.
- Gupta N, Ram H, Kumar B (2016) Mechanism of zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology* 15: 89-109.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for growing plants without soil. *Collage of Agriculture, University of California, Berkeley, Calif.* 32p.
- Hussain S, Maqsood MA, Rengel Z, Aziz T (2012) Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application. *Plant Soil* 361: 279-290.
- Idahosa D, Alike J, Omoregie A (2010) Genetic variability, heritability and expected genetic advance as indices for yield and yield components selection in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Academia Arena* 2: 22-26.
- Iqbal A, Khalil IA, Ateeq N, Khan MS (2006) Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry* 97: 331-335.

- Londonkar LR, Awanti B (2015) Antioxidant activity of methanolic extract of *Vigna unguiculata*. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science 6(3): 538-544.
- Márquez-Quiroz C, De-la-Cruz-Lázaro E, Osorio-Osorio R, Sánchez-Chávez E (2015) Biofortification of cowpea beans with iron: iron's influence on mineral content and yield. Journal of Soil Science and Plant nutrition 15 (4): 839-847.
- Mayer JE, Pfeiffer WH, Beyer P (2008) Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. Current Opinion in Plant Biology 11: 166-170.
- Mills HA, Jones JB (1996) Plant analysis handbook II: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. Micro-Macro Publishing. 417p.
- Miquilena E, Moros AH (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.
- Nwosu D, Olatunbosun B, Adetiloye I (2013) Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea genotypes in two agro-ecological environments. Greener Journal of Biological Sciences 3: 202-207.
- Onyeka EU (2007) Glycemic and physiochemical properties of five common cowpea (*vigna unguiculata*) cultivars in Nigeria. Journal of Food Processing and Preservation 31: 618-631.
- Rubio C, González Weller D, Martín-Izquierdo R, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A (2007) El zinc: oligoelemento esencial. Nutrición Hospitalaria 22: 101-107.
- SAS Institute I (2009) SAS/STAT 9.2 User's Guide. Second Edition. Cary, NC, USA. SAS Institute Inc. 7869p.
- Shanko D, Andargie M, Zelleke H (2014) Genetic variability and heritability of yield and related characters in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Research in Plant Biology 4: 21-26.

- Sida-Arreola JS, Sánchez-Chávez E, Ávila-Quezada GD, Zamudio-Flores PB, Acosta Muñiz CH (2015a) Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental* 61: 573-576.
- Sida-Arreola JP, Sánchez-Chávez E, Davila-Quezada GD, Acosta-Muñiz C, Zamudio-Flores O (2015b) Biofortificación con hierro y zinc en frijol: estrategia de innovación para mejorar la calidad nutricional y capacidad antioxidante. En: Loreto OC, Lara MJL, Beltrán LS, Valdez CRD, (Com. y Ed). *Memorias XL Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. pp: 383-387.
- Siddhuraju P, Becker K (2007) The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry* 101: 10-19.
- Syakiroh Z, Ummu Habibah A, Norhayati A (2012) Total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Vigna sinensis*. *International Food Research Journal* 19: 1393-1400.
- White PJ, Broadley MR (2005) Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science* 10: 586-593.
- 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.
- WHO (2001) World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers. Disponible en: http://appswho.int/iris/bitstream/10665/66914/1/WHO_NHD_013.pdf.
Fecha de consulta 15 de marzo de 2016.
- Xu B, Chang S (2007) A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science* 72: S159-S166.
- 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.

Zia-Ul-Haq M, Ahmad S, Amarowicz R, De Feo V (2013) Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules* 18: 2005-2017.

Zimmermann MB, Chaouki N, Hurrell RF (2005) Iron deficiency due to consumption of a habitual diet low in bioavailable iron: a longitudinal cohort study in Moroccan children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81: 115-121.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VI. CAPÍTULO 2.

BIOFORTIFICACIÓN DE FRIJOL CAUPÍ (*VIGNA UNGUICULATA* L. WALP) CON HIERRO Y ZINC

Biofortification of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) with iron and zinc

M. Guillén-Molina¹, C. Márquez-Quiroz¹, E. de la Cruz-Lázaro^{1*}, E. Sánchez-Chávez², J. R. Velázquez-Martínez¹

¹División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa Km 25, Villahermosa, CP. 86298, Centro, Tabasco, México.

²Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Cuarta Sur CP. 3820, Fracc. Vencedores del Desierto, CP. 33089, Delicias Chihuahua, México

*Autor para correspondencia: efrain.delacruz@ujat.mx

RESUMEN

Las leguminosas son una fuente importante de alimento en los países en desarrollo, dentro de las cuales sobresale el frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) como una fuente importante de proteína y minerales. En el presente estudio se biofortificaron plantas de frijol caupí cv 'De castilla' con dosis de 00, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de quelato de hierro (Fe-EDDHA) y quelato de zinc (Zn-EDTA), con el objetivo de evaluar el efecto de estos elementos sobre el rendimiento de grano, contenido mineral y actividad antioxidante. El mayor rendimiento de grano se obtuvo con la dosis 50 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, mientras que el mayor contenido de hierro (Fe) y nitrógeno (N) fue para la dosis 25 – 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA. No se observó asociación entre el rendimiento y contenido mineral del grano, ya que la dosis que tuvo el mayor rendimiento, no tuvo los mayores contenidos de minerales. Las mayores actividades antioxidantes se obtuvieron con las dosis 00 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA (32,95%), 25 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA (37,06%), 50 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA (39,68%) y 100 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA (39,86%); lo cual indica que con 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Zn-EDTA se obtiene la mayor actividad antioxidante.

Palabras clave: actividad antioxidante, biofortificación, hierro, zinc

ABSTRACT

Legumes are one of the most important sources of food in developing countries, among which cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) stands out as an important source of protein and minerals. In the present study, cowpea cv 'De

castilla' plants were biofortified for rates of 00, 25, 50 and 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of chelated iron (Fe-EDDHA) and chelated zinc (Zn-EDTA). The aim of the experiment was to evaluate the effect of these elements on grain yield, mineral content and antioxidant activity. The highest grain yield was obtained with 50 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA rate, while the highest content of iron (Fe) and nitrogen (N) were obtained with 25 - 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA. No association was observed between yield and mineral content of the grain, since the rate that had the greatest performance was not the one that had the highest mineral content. The highest antioxidant activity was obtained at rates of 00 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA (32,95%), 25 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA (37.06 %), 50 to 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA (39.68%) and 100 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Fe-EDDHA and Zn-EDTA (39.86%); this results indicated that 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Zn-EDTA had the best antioxidant activity.

Key words: antioxidant activity, biofortification, iron, zinc

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas, son una fuente importante de alimento para los habitantes de los países en desarrollo (Olunike, 2014). El frijol caupí (*V. unguiculata* L. Walp) pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Papilionoideae, tribu Phaseoleae y género Vigna; que crece en las regiones tropicales y subtropicales (Meena *et al.*, 2015). En México se cultiva principalmente en los estados de Campeche, Guerrero, Yucatán y Tabasco (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2008), del cual se consumen los granos secos, vainas, hojas y granos verdes (Márquez-Quiroz *et*

al., 2015); con rendimiento promedio de 0,64 ton ha⁻¹ (Apáez-Barrios *et al.*, 2001).

El frijol caupí es un componente importante en la dieta de las personas de los países en desarrollo de África, América Latina y Asia; así como fuente importante de proteínas (Phillips *et al.*, 2003), la cual oscila entre el 23 y 32 % del peso seco, además de un alto contenido de lisina y triptófano, con contenidos adecuados de vitaminas y minerales como el potasio, fósforo, magnesio, calcio, hierro (Fe) y zinc (Zn) (Diouf, 2011). El Fe y Zn son dos microelementos importantes en la dieta humana, las deficiencias de estos microelementos causan problemas de salud (Shahzad *et al.*, 2014), que afectan a más 2000 millones de personas en el mundo (Amarakoon *et al.*, 2012). Siendo la deficiencia de hierro el trastorno nutricional más importante en el mundo, el cual afecta a más de 1600 millones de personas, mientras que la deficiencia de zinc es considerado el quinto factor de riesgo de enfermedades en los países en desarrollo (Shahzad *et al.*, 2014).

La biofortificación es el proceso por el cual se incrementa el contenido de minerales en las partes comestibles de los cultivos (Mayer *et al.*, 2008), por medio de la aplicación de minerales (fertilizantes) al suelo y foliar (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015). Dentro de los trabajos de biofortificación con hierro y zinc se encuentran los realizados por Nowack *et al.* (2008) en *Triticum aestivum* var. Greina, *Oryza sativa* (Phattarakul *et al.*, 2012), *Ipomea batata* L. Lam (Laurie *et al.*, 2015), *Zea mays* L. (Shanker *et al.*, 2015) y *Phaseolus vulgaris* (Sida-Arreola *et al.*, 2015b, 2015c), quienes incrementaron el contenido de estos microelementos; mientras que en *V. unguiculata* se reporta el incremento de

hierro (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015). Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de la dosis de Fe- EDDHA y Zn- EDTA en el rendimiento, contenido mineral y actividad antioxidante de frijol caupí (*V. unguiculata*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

La investigación se realizó en la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en el municipio de Centro, Tabasco, México; en las coordenadas 17° 46' 56" de longitud norte y 92° 57' 28" de latitud oeste, a una altitud de 21 m. Se estableció en una estructura protegida tipo Megavent tropical de 200 m², con cubierta lateral de malla antiáfidos y malla Grown Cover para impedir el crecimiento de malezas.

Establecimiento del cultivo

Como material vegetativo se utilizó semilla de frijol caupí cv. 'De Castilla' (*V. unguiculata* L. Walp) de tipo indeterminado. La siembra se realizó el 01/04 de 2014, para tener uniformidad en la germinación, las semillas se sumergieron en agua por una hora. Para luego sembrarlas en bolsas de polietileno negro de 30 cm de ancho por 35 cm de alto, las cuales se llenaron con sustrato inerte (tepetzil). La densidad de siembra fue de 44444 plantas por hectárea, durante el ciclo del cultivo se tuvo una temperatura promedio de 37 °C, con humedad relativa del 80 al 94%.

Fertilización y tratamientos

Durante el ciclo del cultivo se aplicó la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (1950) que contiene 14 mM de NO_3^- , 1 mM de H_2PO_4^- , 4 mM de SO_4^{2-} , 6 mM de K^+ , 8 mM de Ca^{2+} y 4 mM de Mg^{2+} . Para suministrar los microelementos en la solución nutritiva se utilizó el producto TradeCorp AZ[®], el pH se ajustó a 6.0 con ácido sulfúrico. La solución nutritiva se aplicó de forma manual, aportando 250 ml los primeros 20 días después de la germinación (DDG), e incrementando a 500 ml del día 21 al 50, mientras que del día 51 al 90 se aplicaron 1000 ml. Para lavar el exceso de sales se aplicó un riego de 1500 ml de agua cada ocho días. El agua de riego utilizada se clasificó como C1S1, lo cual indica que tiene baja salinidad y contenido de sodio, con C: E: 1,3 dS m^{-1} , pH: 7.0, cationes (mM L^{-1}): Ca^{2+} = 4,6; Mg^{2+} = 1,3; K^+ = 0,2; Na^+ = 3,0 y aniones (Mm⁻¹): HCO_3^- = 4,6; Cl^- = 4,0 y SO_4^{2-} = 0,0.

Los tratamientos evaluados fueron los resultantes de las combinaciones de las dosis de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de los fertilizantes Ultraferro (Hierro quelatado con EDDHA 6 % p/p) y Tradecrop Zn (Zinc quelatado con EDTA 14 % p/p). Con lo que se obtuvieron 16 tratamientos, los cuales se aplicaron aportando 250 ml de la solución tratamiento a cada planta cada tercer día.

Manejo agronómico

Las plantas se guiaron y separaron de forma vertical con tutores de hilo de rafia. Para controlar un ataque de *Spodoptera exigua* que ocurrió a los 35 DDG se aplicó el insecticida Karate[®] a dosis de 0.2 L ha^{-1} , mientras que para el

control de un ataque de antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) a los 50 DDG, se aplicó sulfato de cobre Sulfacob 25[®] a dosis de 4 kg ha⁻¹.

Variables agronómicas evaluadas

Se evaluó el rendimiento de grano por planta (RGP) a los 90 DDG, para lo cual se sumó el peso de grano de todas las vainas cosechadas por planta; días a floración (DF), como los días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de la primeras flores; número de vainas (NV), como el número de vainas maduras que se cosecharon a los 90 DDG; largo de vaina (LV), como la longitud promedio de la inserción del pedicelo hasta el extremo libre del ápice de todas las vainas cosechadas por planta; número de granos por vaina (NGV), como el promedio de granos de cada vaina cosecha por planta; peso de vaina (PV), como el peso promedio del grano más la valva de todas las vainas cosechadas por planta; y peso de 100 granos (P100) tomados al azar y pesados en una balanza granataria Ohaus Scout[®] Pro modelo H-2710 con precisión de $\pm 0,1$ g. Todas las variables se midieron por triplicado en cada repetición de cada tratamiento.

Análisis del contenido mineral

La determinación del contenido mineral se realizó en los granos secos de la tercera y cuarta vaina cosechada en cada tratamiento, los cuales se molieron en un molino marca Krups Modelo GX4100, para luego pasar por un tamiz de 2 mm. Las determinaciones de contenido mineral de los tratamientos se realizó en el laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación en

Alimentación y Desarrollo Unidad Delicias. El nitrógeno (N) total se cuantificó por el método Micro-Kjeldahl; para determinar el contenido de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn) se mineralizó 1 g de muestra por digestión trácida de cada tratamiento. El P, se determinó por el método colorimétrico de metavanadato de amonio (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015). Mientras que el K, Ca, Mg, Fe, Zn y Mn se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica en un espectrofotómetro Thermo Scientific™, iCE™ 3000 series AAS (Hernández-Sigala *et al.*, 2014). Todos los análisis se realizaron por triplicado en cada uno de los tratamientos.

Extracción

La extracción se realizó de acuerdo con Xu y Chang (2007), se tomaron 0,2 g de muestra de harina de cada tratamiento y se les agregaron 10 ml del solvente (acetona – agua, 7:3); para luego agitar por 30 min en un agitador Shaker modelo 3520, transcurrido el tiempo se centrifugó a 5000 rpm a 4 °C por 5 min (Centrifuga Hermle modelo Z323K); el sobrenadante se recuperó y el precipitado se sometió de nuevo a extracción bajo las mismas condiciones de la primera extracción. La segunda extracción se filtró con papel filtro Whatman número 1, para luego combinar el primero y segundo filtrado.

Determinación de actividad antioxidante

Se determinó por el método espectrofotométrico del radical libre 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) de acuerdo con la metodología de Brand-Williams *et al.* (1995). Se tomaron 200 µl del extracto y se hicieron reaccionar con 2000 µl de

la solución de DPPH disuelto en metanol al 80 % a 125 μM . Después de 60 min de incubación en oscuridad, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Rayleigh modelo UV-1800. Todas las mediciones se realizaron por triplicado. Los resultados se reportan como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) empleando la siguiente ecuación:

$$\% AA = \left(1 - \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia control}} \right) \times 100$$

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 4 x 4, correspondiendo a las dosis de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ Fe-EDDHA y Zn-EDTA el primero y segundo factor, respectivamente. Con lo que se obtuvieron 16 tratamientos, que se evaluaron por triplicado. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$), todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS 9,2 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para rendimiento de grano se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre las dosis de Fe-EDDHA y Zn-EDTA (Tabla 1), el cual osciló entre 8,28 y 16,26 g de grano por planta, presentando la dosis 50 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA el mayor rendimiento de grano por planta, el cual fue un 96,4 % superior al rendimiento de la dosis 00 – 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA. Estos rendimientos también son mayores a los 7 g de grano por planta

reportados por Apáez-Barríos *et al.* (2011), pero de acuerdo con el rendimiento de 13 g de grano por planta que obtienen los agricultores locales por ciclo (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015), sólo las dosis 50 – 50 y 25 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, tuvieron rendimientos superiores. En lo referente a los efectos de las dosis de Fe-EDDHA y Zn-EDTA por separado, se encontró que con 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Zn-EDTA se tuvo el mayor rendimiento de grano (13,59 g), el cual es superior ($p \leq 0,05$) al obtenido con las otras dosis de Zn-EDTA; mientras que con la dosis de 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA se tuvo el mayor RGP (12,77 g), aunque no fue estadísticamente diferente al rendimiento de las otras dosis de Fe-EDDHA. El mayor rendimiento con 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA coincide con lo reportado por Sida-Arreola *et al.* (2015c) quienes encontraron que con la dosis de 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de quelato de Fe se tiene el mayor rendimiento de grano de *Phaseolus vulgaris*.

Para días a floración (DF) no se observaron diferencias estadísticas entre las concentraciones, oscilando la floración entre 44,16 y 53,16 días. Al respecto, Manggoel y Uguru (2012) indican que las plantas de frijol caupí que florecen en menos de 45 días, se consideran precoces, mientras que las que florecen después de los 46 días se consideran tardías, por lo que sólo las plantas que florecieron con la dosis 25 – 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA tuvieron floración precoz, mientras que el resto de la dosis tuvieron floraciones tardías.

Tabla 1. Características agronómicas y componentes de rendimiento de la biofortificación de frijol caupí con quelato de Fe y Zn

Table 1. Agronomic characteristics and yield componente of biofortified cowpea beans with Fe and Zn Chelates

Fuente	Dosis $\mu\text{M L}^{-1} \text{IL}^{-1}$	RGP	DF	NV	LV	NGV	PV	P100
		(g)				(cm)		(g)
Fe EDDHA - Zn-EDTA	00 - 00	8,28 ab	46,83 a	5,66 b	13,09 b	9,57 b	1,71 a	13,4 b
	00 - 25	11,37 ab	46,66 a	6,83 ab	17,40 a	10,81 ab	2,02 a	12,9 b
	00 - 50	11,93 ab	49,66 a	7,16 ab	16,45 ab	13,33 ab	2,53 a	14,7 ab
	00 - 100	9,92 ab	48,83 a	7,00 ab	15,48 ab	9,57 b	1,80 a	12,3 b
	25 - 00	10,01 ab	52,33 a	7,83 ab	14,04 ab	12,86 ab	2,29 a	13,0 b
	25 - 25	9,47 b	44,16 a	8,25 ab	16,13 ab	11,18 ab	2,79 a	16,7 a
	25 - 50	14,45 ab	50,33 a	7,83 ab	17,39 a	11,20 ab	2,16 a	11,8 b
	25 - 100	10,06 ab	51,16 a	6,16 ab	15,87 ab	12,23 ab	2,17 a	12,3 b
	50 - 00	10,76 ab	47,00 a	5,66 ab	16,71 ab	12,15 ab	2,32 a	13,4 b
	50 - 25	11,75 ab	53,16 a	6,33 ab	14,89 ab	12,95 ab	2,61 a	15,1 ab
	50 - 50	16,26 a	51,83 a	8,75 a	17,76 a	13,17 ab	2,55 a	14,4 ab
	50 - 100	11,98 ab	48,83 a	6,83 ab	15,89 ab	13,65 a	2,35 a	12,8 b
	100 - 00	9,92 ab	50,66 a	5,83 ab	12,73 b	11,83 ab	1,81 a	12,0 b
	100 - 25	10,74 ab	49,50 a	6,83 ab	16,03 ab	11,13 ab	2,04 a	13,2 b
100 - 50	11,74 ab	49,83 a	6,83 ab	17,48 a	12,68 ab	2,22 a	12,8 b	
100 - 100	12,75 ab	49,16 a	6,83 ab	17,34 a	13,77 a	2,55 a	13,8 ab	
Fe-EDDHA	00	10,71 a	48,00 a	6,66 a	15,61 a	11,60 a	2,03 a	12,9 a
	25	11,16 a	49,50 a	7,52 a	15,85 a	11,52 a	2,36 a	14,5 a
	50	12,77 a	50,20 a	7,06 a	16,31 a	12,59 a	2,36 a	13,4 a
	100	11,32 a	49,79 a	6,75 a	15,89 a	12,30 a	2,22 a	12,8 a
Zn-EDTA	00	10,35 b	49,20 a	6,16 b	14,31 b	10,82 a	2,01 b	13,3 a
	25	10,83 b	48,37 a	7,06 ab	16,11 ab	11,87 a	2,35 ab	13,4 a
	50	13,59 a	50,41 a	7,64 a	17,27 a	12,98 a	2,46 a	13,9 a
	100	11,18 ab	49,50 a	6,70 ab	16,14 ab	12,35 a	2,15 ab	12,9 a

RPG=rendimiento de grano por planta, DF= días a floración, NV= número de vaina, LV= largo de vaina, NGV= número de granos vaina' PV= peso de vaina, P100G= peso promedio de 100 granos. Valores con la misma letra dentro década columna son iguales con la prueba Tukey al 0,05.

El número de vainas por planta (VP) osciló entre 5,33 y 8,75, presentando el mayor número de vainas la dosis 50 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, lo que coincide con Sida-Arreola *et al.* (2015a), quienes encontraron que con esta dosis se tiene los mayores rendimientos de biomasa y grano en *P. vulgaris*. En tanto que el largo de vaina osciló entre 12,73 y 17,76 cm, valores que se encuentran entre los 13,7 y 16,2 cm reportados para largos de vainas de *V. unguiculata* (Babaji *et al.* 2011); presentando las dosis 50 – 50, 100 – 50, 00 – 25, 25 – 50 y 100 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA los mayores largos de vainas ($p \leq 0.05$). Para el número de granos por vaina se encontraron valores entre 9,57 y 13,77, obteniendo los mayores números de granos por vainas las dosis 100 - 100 y 50 - 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, las cuales tienen más de 11,5 granos por vaina reportados por Abayomi *et al.* (2008). El peso de vaina de las diferentes dosis de Fe-EDDHA y Zn-EDTA osciló entre 1,71 y 2,79 g, los cuales no fueron diferentes estadísticamente entre las dosis. Para peso de 100 granos se encontraron valores entre 11,8 y 16,7 g, los cuales son superiores a los 12,00 y 12,41 g reportados por Lagunes-Espinoza *et al.* (2008) y Apáez-Barrios *et al.* (2011), pero de acuerdo con Márquez-Quiroz *et al.* (2015) sólo la dosis 25 – 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA tuvo valores superiores a los 15,0 g para frijol caupí biofortificado con Fe-EDDHA.

La calidad nutritiva de los cultivos es un parámetro importante en la alimentación, ya que estos deben proporcionar vitaminas, minerales y compuestos esenciales para la nutrición. En el presente estudio se encontró que el contenido de nitrógeno fue de 3150 a 3730 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (3,15 y 3,73 %), valores que se encuentran dentro del rango de los 2970 a 5040 $\text{mg } 100^{-1}$

reportados por Muranaka *et al.* (2015) para frijol caupí (Tabla 2). Estos contenidos de nitrógeno equivalen a un contenido de proteína cruda de 17,2 a 20,3 %, de acuerdo con el factor de 5,45 de Muranaka *et al.* (2016) para *V. unguiculata*. Por lo que el mayor contenido de proteína cruda lo tuvo la dosis 25 – 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, lo que indica que con esta dosis se tienen los granos con mayor contenido de Fe y proteína cruda, lo cual coincide con Cakmak *et al.* (2010) quienes indica que hay una relación positiva entre el contenido de proteína y Fe. También se ha reportado se sabe que el contenido de proteína esta correlacionado de forma negativa con el rendimiento (Olunike, 2014), lo que se observa en el presente estudio, en donde la dosis 50 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA que tuvo el mayor rendimiento de grano, fue la dosis que tuvo el segundo menor contenido de nitrógeno. El contenido de fósforo fue de 56 a 90 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de grano, presentando el mayor contenido la dosis 00 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, el cual es estadísticamente diferente ($p < 0.05$) a las otras dosis evaluadas, en general se observó que con el incremento de la dosis de Zn el contenido de fósforo disminuyó, tal como lo indica Cakmak *et al.* (2010). El contenido de potasio (K) fluctuó entre 1180 y 1520 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de grano, valores que son similares a los reportados por Márquez-Quiroz *et al.* (2015) para frijol caupí biofortificado con Fe, pero son superiores a los 1280 y 1430 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de grano reportados por Iqbal *et al.* (2006) y Frota *et al.* (2008); presentando el mayor contenido de K la dosis 100 - 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, la cual fue un 28.8 % mayor al contenido encontrado en la dosis 00 – 00 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA. En lo que respecta al calcio (Ca) se encontraron valores entre 63 y 106 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de

grano, presentando los mayores contenidos las concentraciones 00 – 25, 25 – 100 y 100 – 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, los cuales son superiores a los 44 mg 100 g^{-1} de grano reportados por Carvalho *et al.* (2012), pero son inferiores a los valores de 140 y 170 mg 100 g^{-1} de grano reportados por Iqbal *et al.* (2006) y Frota *et al.* (2008). El contenido de magnesio (Mg) osciló entre 136 y 243 mg 100 g^{-1} , valores que son mayores a los reportados por Iqbal *et al.* (2006).

Para el contenido de hierro se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las dosis, con valores que oscilaron entre 3,41 y 4,80 mg 100 g^{-1} de grano de frijol caupí, lo cual es superior a los 2,6 mg 100 g^{-1} de grano reportados por Iqbal *et al.* (2006). Presentando las mayores concentraciones de Fe las dosis 25 – 00, 50 – 00 y 50 – 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, lo cual coincide con Sida-Arreola *et al.* (2015c) quienes indican que al aplicar quelato de Fe en dosis de 25 y 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ se obtiene la mayor acumulación de Fe en el grano.

El contenido de zinc (Zn) en el grano osciló entre 4,87 y 5,69 mg 100 g^{-1} de grano, presentando el mayor contenido la dosis 100 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe y Zn y el menor contenido la dosis 50 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA. Se observa que la dosis en la que se obtuvo el menor contenido de Zn, fue la que tuvo el mayor contenido de Fe, lo que se puede deber a la interacción negativa entre el Fe y Zn, lo que coincide con Shekari *et al.* (2015) quienes reportan que en trigo al incrementar la concentración de Zn, la concentración de Fe disminuye en el grano.

Tabla 2. Contenido mineral del grano de frijol caupí biofortificado con quelatos de Fe y Zn.

Table 2. Mineral content of biofortified cowpea grain with Fe and Zn chelates

Fuente	Dosis $\mu\text{M L}^{-1}$	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn
		mg 100 g ⁻¹							
Fe-EDDHA – Zn-EDTA	00 – 00	3540,00 abc	76,00 abc	1180,00 b	70,00 ab	136,00 d	3,41 cd	4,96 ab	0,94 abcd
	00 – 25	3690,00 ab	70,00 abc	1250,00 ab	106,00 a	213,00 bc	4,14 abcd	4,90 ab	1,11 abc
	00 – 50	3630,00 abc	73,00 abc	1140,00 b	63,00 b	220,00 abc	3,47 bcd	5,15 ab	1,01 abcd
	00 – 100	3600,00 abc	90,00 a	1370,00 ab	96,00 ab	226,00 abc	3,80 abcd	5,27 ab	1,16 ab
	25 – 00	3730,00 a	70,00 abc	1190,00 ab	66,00 ab	220,00 abc	4,70 a	5,27 ab	1,17 a
	25 – 25	3430,00 bc	70,00 abc	1250,00 ab	76,00 ab	213,00 bc	4,06 abcd	5,29 ab	1,15 ab
	25 – 50	3580,00 abc	66,00 def	1430,00 ab	90,00 ab	236,00 ab	4,04 abcd	5,17 ab	1,00 abcd
	25 – 100	3670,00 abc	66,00 abc	1360,00 ab	106,00 a	203,00 c	3,85 abcd	5,32 ab	0,85 d
	50 – 00	3600,00 abc	83,00 ab	1340,00 ab	80,00 ab	220,00 abc	4,80 a	5,49 ab	1,17 a
	50 – 25	3650,00 abc	73,00 abc	1400,00 ab	93,00 ab	206,00 bc	4,78 a	4,87 b	0,90 cd
	50 – 50	3410,00 cd	80,00 abc	1370,00 ab	90,00 ab	220,00 abc	3,72 abcd	5,45 ab	0,97 abcd
	50 – 100	3560,00 abc	56,00 c	1240,00 ab	83,00 ab	226,00 abc	4,19 abcd	5,27 ab	0,93 bcd
	100 – 00	3630,00 abc	86,00 ab	1520,00 a	103,00 ab	243,00 a	4,31 abc	5,13 ab	1,08 abcd
	100 – 25	3620,01 abc	70,00 abc	1440,00 ab	106,00 a	216,00 bc	4,46 abc	5,17 ab	0,98 abcd
100 – 50	3510,00 abc	63,00 bc	1190,00 ab	86,00 ab	236,00 ab	4,18 abcd	5,69 a	1,06 abcd	
100 – 100	3150,00 d	70,00 abc	1440,00 ab	96,00 ab	233,00 ab	4,27 abc	5,17 ab	1,10 abc	
Fe-EDDHA	00	3610,00 a	77,02 a	1230,00 b	84,00 a	199,00 c	3,70 b	5,07 a	1,05 a
	25	3600,00 a	70,00 a	1300,00 ab	85,00 a	218,00 b	3,94 ab	5,26 a	1,05 a
	50	3550,00 ab	73,00 a	1340,00 ab	86,00 a	218,00 b	4,20 a	5,27 a	0,99 a
	100	3470,00 b	72,01 a	1400,00 a	98,00 a	232,00 a	4,308 a	5,29 a	1,05 a
Zn-EDTA	00	3620,00 a	80,00 a	1310,00 a	80,00 b	205,00 b	4,31 ab	5,21 a	1,09 a
	25	3590,00 a	70,00 b	1330,00 a	95,00 a	212,00 b	4,36 a	5,06 a	1,03 a
	50	3530,00 ab	70,00 b	1280,00 a	82,00 ab	228,00 a	3,85 bc	5,37 a	1,02 a
	100	3490,00 b	70,00 b	1350,00 a	95,00 a	222,00 a	3,72 c	5,26 a	1,01 a

N=nitrógeno, P=fosforo, K=potasio, Ca=calcio, Mg=magnesio, Fe=hierro, Zn= zinc, Mn=manganeso. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales con la prueba Tukey =0.05.

Actualmente existe interés en los compuestos antioxidantes de los cultivos, debido a su capacidad de inhibir el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (Enujiugha *et al.*, 2012).

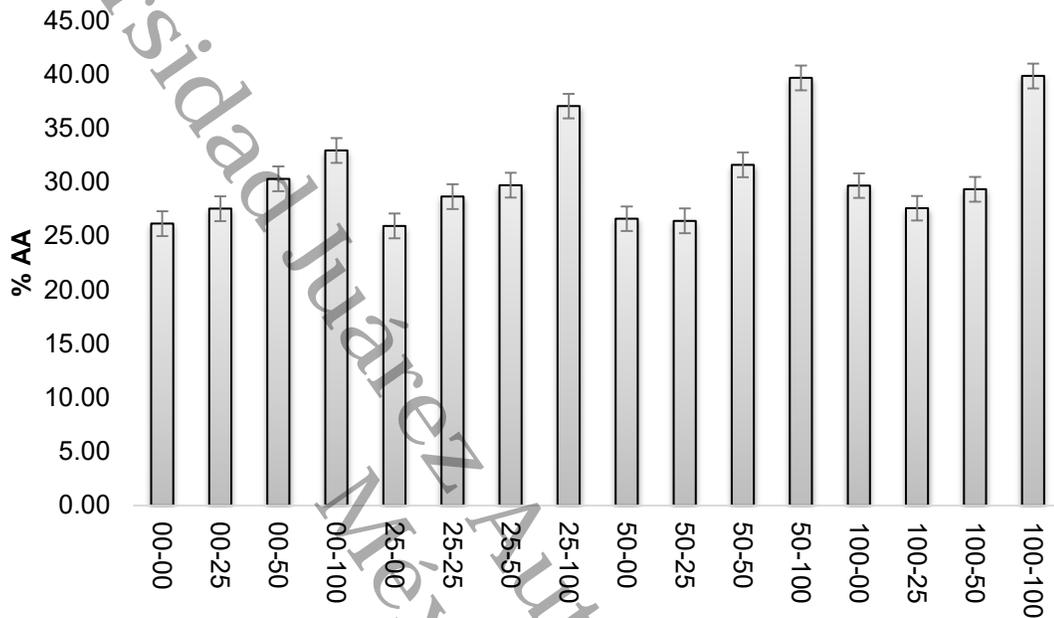


Figura 1. Efecto de la biofortificación con diferentes dosis de quelato de Fe y Zn en la actividad antioxidante en el grano del frijol caupí.

Figure 1. Effect of biofortification with different Fe and Zn chelate doses on antioxidant activity of cowpea grain.

El porcentaje de actividad antioxidante en las diferentes dosis fue de 25,94 a 39,86 % (Figura 1), presentando la mayor actividad antioxidante la dosis 100 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, valores que son superiores al porcentaje de actividad antioxidante de 11% para frijoles caupí de color blanco, pero inferior a la actividad antioxidante de 54% para frijoles caupí de color marrón (Petchiammal y Hopper, 2014). En la Figura 1 se observa que al incrementar el Zn y tener de forma fija la dosis de Fe, la actividad antioxidante incrementa del

22,16 al 32,95% (00 - 00, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA), 25,94 al 37,06% (25 - 00, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA), 26,91 al 39,68% (50 - 00, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA) y 29,68 al 39,86% (100 - 00, 25, 50 y 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA). Por lo que al incrementar la dosis de Fe y Zn se incrementa la actividad antioxidante, lo cual se puede deber a que las mayores dosis de Fe y Zn incrementan la actividad antioxidante por medio del incremento del contenido fenólico en la semilla (Zia-UI-Haq *et al.*, 2013). En lo referente a la mayor actividad antioxidante encontrada en la dosis 100 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, se ha reportado que con 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe se tiene la mayor actividad antioxidante en *P. Vulgaris* (Sida-Arreola *et al.*, 2015c), mientras que para Zn la mayor actividad antioxidante se tiene reportada para dosis de 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ (Sida-Arreola *et al.*, 2015b). Las diferencias en la dosis de Zn de mayor actividad antioxidante, se puede deber a que en los trabajos antes citados las dosis se aplicaron de forma separada, mientras que en el presente estudio se usaron dosis combinadas de estos elementos, por lo que pudieron interaccionar y proporcionar mayor actividad antioxidante.

CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que la biofortificación del frijol caupí cv 'De castilla' con diferentes dosis de Fe-EDDHA y Zn-EDTA, afecta el rendimiento de grano, contenido mineral y actividad antioxidante del grano. Con la dosis 50 – 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA se obtuvo el mayor rendimiento de grano por planta, número y largo de vainas. No se observó asociación entre el rendimiento

y el contenido mineral de la semilla, ya que la dosis con el mayor rendimiento de grano, no fue la que tuvo el mayor contenido mineral. Se observó efecto positivo entre el contenido de Fe y nitrógeno, ya que la dosis 00 – 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA tuvo el mayor contenido de estos minerales. En el grano de frijol caupí, la aplicación de mayores dosis de Fe y Zn incrementan la actividad antioxidante, observándose los mayores porcentajes de actividad antioxidantes en las dosis que tuvieron 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Zn-EDTA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abayomi YA, Ajibade TV, Sanmuel OF, Ádudenn SA (2008). Growth and yield response of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) genotypes to nitrogen fertilizer (NPK) application in the Southern Guinea Savanna zone of Nigeria. *Asian Journal of Plant Science* 7: 170-176.
- Amarakoon D, Thavarajah D, McPhee K, Thavarajah P (2012). Iron-, zinc-, and magnesium-rich field peas (*Pisum sativum* L.) with naturally low phytic acid: A potential food-based solution to global micronutrient malnutrition. *Journal of Food Composition and Analysis* 27: 8-13.
- 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 Agroecosystems* 13: 307-315.
- Babaji BA, Yahaya RA, Mahadi MA, Jaliya MM, Sharifai AI, Kura HN, Arunah UL, Ibrahim A, Ajeigbe H (2011). Growth attributes and pod yield of four Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) varieties as influenced by residual effect of different application rates of farmyard manure. *Journal of Agricultural Science* 3: 165-171.

- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology* 28: 25-30.
- 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 RFF (2012). Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. *Journal of Food Composition and Analysis* 26: 81-88.
- Cakmak I, Pfeiffer WH, McClafferty B (2010). Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry* 87: 10-20
- Diouf D (2011). Recent advances in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] “omics” research for genetic improvement. *African Journal of Biotechnology* 10: 2803-2810.
- Enujiugha VN, Talabi JY, Malomo SA, Olagunju AI (2012). DPPH radical scavenging capacity of phenolic extracts from african yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). *Food and Nutrition Science* 3: 7-13.
- Frota KMG, Soares RAM, Arêas JAG (2008). Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 470-476.
- Hernández-Sigala R, Sánchez-Chávez E, Guerrero Morales S, Rivas Lucero BA, Anchondo NA (2014). Fertilización orgánica complementada con inorgánica en pistacho: efecto sobre la dinámica nutricional foliar y rendimiento. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 5: 605-617.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950). The water-culture method for growing plants without soil. College of Agriculture, University of California, Berkeley, Calif. 32pp.
- Iqbal A, Khalil IA, Ateeq N, Khan MS (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry* 97: 331-335.
- Lagunes-Espinoza LC, Gallardo-López F, Becerril-Hernández H, Bolaños-Aguilar E (2008). Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus*

- vulgaris y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. Revista Chapingo Serie horticultura 14: 13-21.
- Laurie S, Faber M, Adebola P, Belete A (2015). Biofortification of sweet potato for food and nutrition security in South Africa. Food Research International 76: 962-970.
- Manggoel W, Uguru MI (2012). Evidence of maternal effect on the inheritance of flowering time in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). International Journal of Plant Breeding and Genetics 6: 1-16.
- Márquez-Quiroz C, De la Cruz-Lázaro E, Osorio-Osorio R, Sánchez-Chávez E (2015). Biofortification of cowpea beans with iron: iron's influence on mineral content and yield. Journal of soil science and plant nutrition 15: 839-847.
- Mayer JE, Pfeiffer WH, Beyer P (2008) Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. Current Opinion in Plant Biology 11:166–170.
- Meena HK, Krishna KR, Singh B (2015). Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). The Journal of Plant Science Research 31: 13- 16.
- Muranaka S, Shono M, Manjula K, Takagi H, Ishikawa H (2015) Application of near to mid-infrared spectroscopy to estimation of grain nitrogen content in cowpea (*Vigna unguiculata*) grown under multiple environmental conditions. Journal of Biological and Food Science Research 4: 16-24.
- Muranaka S, Shono M, Myoda T, Takeuchi J, Franco J, Nakazawa Y, Boukar O, Takagi H (2016). Genetic diversity of physical, nutritional, and functional properties of cowpea grain and relationships among the traits. Plant Genetic Resources 14: 67-76.
- Nowack B, Schwyzer I, Schulin R (2008). Uptake of Zn and Fe by wheat (*Triticum aestivum* var. Greina) and transfer to the grains in the presence of chelating agents (ethylenediaminedisuccinic acid and ethylenediaminetetraacetic acid). Journal of agricultural and food chemistry 56: 4643-4649.

- Olunike AA (2014). Utilization of legumes in the Tropics. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 4: 77-84.
- Phattarakul N, Rerkasem B, Li LJ, Wu LH, Zou CQ, Ram H, Sohu VS, Kang BS, Surek H, Kalayci M, Yazici A, Zhang FS, Cakmak I (2012). Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil* 361: 131-141.
- Petchiammal C, Hopper W (2014). Antioxidant activity of proteins from fifteen varieties of legume seeds commonly consumed in India. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6: 476-479.
- Phillips RD, McWatters KH, Chinnan MS, Yen-Con H, Beuchat LR, Sefaddehb S, Sakyi-Dawsonb E, Ngoddy P, Nnanyelugo D, Enwere J, N. Komey S, Liu K, Mensa-Wilmot Y, Nnanna IF, Okeke C, Prinyawiwatkul W, Saalia FK (2003). Utilization of cowpeas for human food. *Field Crops Research* 82: 193–213.
- Shahzad Z, Rouached H, Rakha A (2014). Combating mineral malnutrition through iron and zinc biofortification of cereals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13: 329 – 346.
- Shanker GH, Firoz H, Vignesh M (2015). Biofortification of maize: An Indian perspective. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 75: 1-22.
- Shekari F, Javanmard A, Abbasi A (2015). Zinc biofortification, preference or essential? *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 8: 320-327.
- Sida-Arreola JP, Sánchez E, Dávila-Quezada GD, Zamudio-Flores PB, Acosta Muñiz CH (2015a). Can improve iron biofortification antioxidant responde, yield and nutritional in gree bean?. *Agricultura Science* 6: 1324-1332.
- Sida-Arreola JP, Sánchez-Chávez E, Muñoz-Márquez E, Flores-Córdova MA (2015b). Parámetros nitrogenados, biomasa y rendimiento en frijol biofortificado con hierro y zinc. In: Loredó OC, Lara MJL, Beltrán LS, Valdez CRD (Comp. y Ed.). *Memorias del XL Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. pp: 383-387.

Sida-Arreola JS, Sánchez-Chávez E, Ávila-Quezada GD, Zamudio-Flores PB, Acosta Muñíz CH (2015c) Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental* 61: 573-576.

Xu B, Chang S (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of food science* 72: 159-166.

Zia-Ul-Haq M, Ahmad S, Amarowicz R, De Feo V (2013). Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules* 18: 2005-2017

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VII. - CONCLUSIONES GENERALES

La biofortificación con sulfato de ZnSO_4 y FeSO_4 afecta el rendimiento, contenido mineral y actividad antioxidante en el grano de frijol caupí. La dosis de 0 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 , incrementaron el contenido de Fe, número de vainas, semillas y contenido de proteína. En tanto que las dosis 25 - 0 y 25 - 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 tuvieron la mayor actividad antioxidante, mientras que el mayor contenido de fenoles totales se tuvo con la dosis 25-25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de ZnSO_4 y FeSO_4 .

La biofortificación con dosis de 50 - 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Fe-EDDHA y Zn-EDTA se obtiene el mayor rendimiento, número y largo de vaina. Mientras que la actividad antioxidante se incrementó aplicando 100 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Zn-EDTA, lo que indica una correlación entre la actividad antioxidante y el Zn. La biofortificación con sulfatos (ZnSO_4 y FeSO_4) y quelatos (Fe-EDDHA y Zn-EDTA) incrementa el rendimiento, contenido proteico, contenido mineral y compuestos antioxidantes.

VIII. – ANEXOS

Carta de envío del artículo a la revista de Ecosistemas y Recursos Agropecuarios (ERA): Contenido mineral y actividad antioxidante de frijol caupí biofortificado con sulfato de hierro y zinc.

De: **Dr. Efraín de la Cruz Lázaro** (ecosistemas.era@gmail.com)

Enviado: lunes, 16 de mayo de 2016 01:43:26 p.m.

Para: Dr César Márquez-Quiroz (cesar_quiroz23@hotmail.com)

Dr César Márquez-Quiroz:

Gracias por enviar el manuscrito "Contenido mineral y actividad antioxidante de frijol caupí biofortificado con sulfato de hierro y zinc" a Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:

<http://132.248.10.25/era/index.php/rera/author/submission/1096>

Nombre de usuario/a: cesar_quiroz23

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro

Ecosistemas y Recursos Agropecuarios

Ecosistemas y Recursos Agropecuarios <http://132.248.10.25/era/index.php/era>

Rendimiento, contenido mineral y capacidad antioxidante de *Vigna unguiculata* (L.) Walp cultivado bajo diferentes dosis de hierro y zinc

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.researchgate.net Internet	115 palabras — 2%
2	agrocienza-colpos.mx Internet	112 palabras — 2%
3	archivos.ujat.mx Internet	77 palabras — 1%
4	1library.co Internet	31 palabras — 1%
5	sociales.redalyc.org Internet	31 palabras — 1%
6	www.tandfonline.com Internet	27 palabras — < 1%
7	moam.info Internet	24 palabras — < 1%
8	ri.ujat.mx Internet	23 palabras — < 1%
9	academic.oup.com Internet	21 palabras — < 1%
10	doaj.org Internet	

19 palabras — < 1%

11 Efraín De la Cruz Lázaro, Jean W. Félix, Esteban Sánchez-Chávez, Oscar Tosquy-Valle et al. 18 palabras — < 1%
"Biofortification of Verdín Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) With Chelate and Iron Sulfate", REVISTA TERRA LATINOAMERICANA, 2024
Crossref

12 epub.uni-bayreuth.de 18 palabras — < 1%
Internet

13 ecosur.repositorioinstitucional.mx 17 palabras — < 1%
Internet

14 repositorio.uaaan.mx 16 palabras — < 1%
Internet

15 hdl.handle.net 15 palabras — < 1%
Internet

16 locus.ufv.br 15 palabras — < 1%
Internet

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS

< 15 PALABRAS