

Biofortificación de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Variedad Verdín con Quelato y Sulfato de Hierro Biofortification of Verdín Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) With Chelate and Iron Sulfate

Jean W. Félix¹ , Esteban Sánchez-Chávez² , Oscar Tosquy-Valle³ ,
Pablo Preciado-Rangel⁴ , Cesar Márquez-Quiroz¹ y Efraín de la Cruz-Lázaro^{1†}

¹ Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias. Carretera Villahermosa-Teapa km 25. 86280 Villahermosa, Tabasco, México; (J.W.F.), (C.M.Q.), (E.C.L.).

[†] Autor para correspondencia: efrain.delacruz@ujat.mx

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Avenida Cuarta Sur No. 3820, Fraccionamiento Vencedores del Desierto. 33089 Delicias, Chihuahua, México; (E.S.Ch.).

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. CIRGOC-CE Cotaxtla. Carretera Federal Veracruz-Córdoba km 34.5. 94270 Medellín de Bravo, Veracruz, México; (O.T.V.).

⁴ Instituto Tecnológico de Torreón. Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Ejido Ana. 27170 Torreón, Coahuila, México; (P.P.R.).

RESUMEN

La biofortificación es el proceso por medio del cual se puede incrementar el contenido de nutrientes en la parte comestible de las plantas cultivadas. El objetivo fue determinar el efecto del quelato y sulfato de hierro aplicado de forma foliar y edáfica en el contenido mineral, nutricional, y compuestos bioactivos del grano de frijol variedad Verdín. Se aplicaron las dosis de 0, 25, 50 y 100 mM de quelato de hierro foliar y dosis de 0, 0.25 y 0.50 g por planta de sulfato de hierro edáfico, lo que origina 12 tratamientos que se evaluaron bajo un diseño de bloques al azar en arreglo factorial 4×3 donde el primer factor fueron las dosis foliares y el segundo factor las dosis edáficas. En el grano se determinó el contenido de hierro, zinc, manganeso, níquel, calcio, potasio, cenizas, proteínas, grasas, fibra, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante. Las aplicaciones individuales de hierro edáfico y foliar tuvieron efectos significativos ($P < 0.0001$), presentando la aplicación edáfica de 0.50 g de hierro los mayores incrementos de 17.38%, 20.69%, 10.93%, 5.82% y 2.84% del contenido de hierro, níquel, proteína, fibra cruda y capacidad antioxidante con respecto a la dosis sin hierro edáfico. Pero se observaron efectos antagonicos en el contenido de zinc y grasas al incrementar la dosis de hierro. La aplicación simultánea de hierro edáfico y foliar presentó diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$), presentando el mayor incremento de hierro (75.91%), níquel (30.61%), cenizas (114.69%), proteína (18.14%) y fibra cruda (15.34%) la aplicación de 100 mM foliar y 0.50 g edáfico con respecto a la combinación sin hierro. La aplicación combinada de hierro puede ser benéfica para aumentar el contenido mineral, nutricional y algunos compuestos bioactivos; pero se debe tener cuidado para minimizar los efectos negativos en otros nutrientes y propiedades del grano.

Palabras clave: capacidad antioxidante, compuestos bioactivos, fenoles totales.

SUMMARY

Biofortification is a process that increases the nutrient content in plants' edible parts. The objective was to determine the effect of iron chelate and iron sulfate applied through foliar and edaphic methods on the mineral, nutritional, and bioactive compound content of the Verdín bean grain. Foliar doses of 0, 25, 50 and 100 mM of iron chelate and edaphic doses of 0, 0.25 and 0.50 g per plant of iron sulfate were applied, which generated 12 treatments that were evaluated in a randomized



Cita recomendada:

Félix, W. J., Sánchez-Chávez, E., Tosquy-Valle, O., Preciado-Rangel, P., Márquez-Quiroz, C., & de la Cruz-Lázaro, E. (2024). Biofortificación de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Variedad Verdín con Quelato y Sulfato de Hierro. *Terra Latinoamericana*, 42, 1-11. e1831. <https://doi.org/10.28940/terra.v42i0.1831>

Recibido: 24 de agosto de 2023.
Aceptado: 10 de febrero de 2024.
Artículo. Volumen 42.
Marzo de 2024.

Editor de Sección:
Dr. Tomás Rivas García



Copyright: © 2024 by the authors.
Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

block design in 4×3 factorial arrangement where the first factor was the foliar doses, and the second factor was the edaphic doses. The content of iron, zinc, manganese, nickel, calcium and potassium, ash, proteins, fats, fiber, total phenols, flavonoid, anthocyanins, and antioxidant capacity were determined in the grain. The individual applications of foliar and edaphic iron had significant effects ($P \leq 0.05$), with the edaphic dose of 0.50 g presenting the greatest increases in iron (17.38%), nickel (20.69%), protein (10.93%), crude fiber (5.82%) and antioxidant capacity (2.84%) regarding doses without edaphic iron. The simultaneous application of edaphic and foliar iron showed statistical differences ($P \leq 0.05$), presenting the greatest increase in iron (75.91%), nickel (30.61%), ash (114.69%), protein (18.14%) and crude fiber (15.34%) with the 100 mM foliar - 0.50 g edaphic combination regarding to the combination without iron. For individual and simultaneous iron applications, it was observed that increasing the foliar and edaphic doses had antagonistic effects on the zinc and fat content. The application of iron can be beneficial to increase the mineral and nutritional content, and some bioactive compounds, but care must be taken to minimize the negative effects on other nutrients and properties of the grain.

Index words: *antioxidant activity, bioactive compounds, total phenols.*

INTRODUCCIÓN

Phaseolus vulgaris L. es la fuente principal de nutrientes de más de 300 millones de personas en el mundo, debido a su aporte de minerales, carbohidratos, proteínas y vitaminas (Huertas *et al.*, 2023). A las que aporta el 65% de las proteínas y el 32% de la energía, además de cantidades adecuadas de hierro, zinc, ácido fólico y tiamina a su dieta diaria (Rodríguez *et al.*, 2022).

El frijol, debido a su popularidad y consumo, es la leguminosa más cultivada en América Latina, África y Europa (Sperotto y Ricachenevsky, 2017). En el año 2021, en México se registró una producción de 328 891 toneladas en 261 693 hectáreas (SIAP, 2021). La relevancia del frijol se manifiesta en un consumo *per cápita* de 18 kg al año, lo que equivale al 36% de la ingesta diaria recomendada de proteínas en comunidades rurales (Lara-Flores, 2015).

En las plantas, el hierro desempeña un papel crítico en procesos como la fotosíntesis, la respiración y la biosíntesis de clorofila; lo que convierte al hierro en un elemento esencial para el desarrollo de las plantas (Connorton, Balk y Rodríguez-Celma, 2017). A pesar de que las plantas requieren una cantidad baja de hierro, su escasez se manifiesta en forma de clorosis, lo que restringe el crecimiento, rendimiento, calidad y la tolerancia al estrés (Huertas *et al.*, 2023).

De acuerdo con Cakmak, Pfeiffer y McClafferty (2010), la biofortificación agronómica consiste en aportar a la planta micronutrientes por medio de la aplicación edáfica o foliar. Este enfoque es eficaz y rentable para incrementar la concentración y la disponibilidad de minerales y vitaminas en las partes comestibles de las plantas cultivadas (Finkelstein, Haas y Mehta, 2017), especialmente en aquellas que constituyen la base alimentaria para eliminar problemas de deficiencia de micronutrientes (De Valença, Bake, Brouwer y Giller, 2017).

El frijol es la leguminosa más consumida a nivel mundial por tal motivo se está trabajando para biofortificarlo, con miras en aumentar el contenido de hierro (Ates *et al.*, 2018). Con respecto al contenido de hierro a nivel mundial del frijol, se reportan contenidos entre 34 y 152 mg kg⁻¹, los cuales dependen del genotipo y del tipo de suelo donde se cultivan (Huertas *et al.*, 2023). Mientras que en México se reportan contenidos de hierro de 24.8 a 57.5 mg kg⁻¹ para poblaciones nativas y cultivadas (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017). En lo referente a la biofortificación de este cultivo, se ha observado que es posible aumentar el contenido de hierro en el grano, por medio de aplicaciones edáficas y foliares de forma simultánea, pero la aplicación foliar es más efectiva en dosis de 25 mM para incrementar el hierro en el grano en un 29% con respecto al testigo (Sida-Arreola, Sánchez, Ávila, Zamudio y Acosta, 2015). Al respecto, HarvestPlus, un programa internacional de apoyo a la investigación y desarrollo de cultivos biofortificados, reporta que el objetivo es incrementar el contenido de hierro hasta 94 mg kg⁻¹ (Sperotto y Ricachenevsky, 2017). Sobre lo mismo Beebe (2020) menciona que debido a que el contenido promedio de hierro de una variedad local estándar es de 50 mg kg⁻¹, y el objetivo es incrementar en 44 mg kg⁻¹ el contenido de hierro se puede considerar como frijol biofortificado aquellos en los que se incrementa el 50% del hierro objetivo (22 mg kg⁻¹). Mientras que Stangoulis y Knez (2022), mencionan que el incremento del hierro en el grano de frijol puede enfrentar restricciones debido a la disponibilidad del suelo y la competencia con otros micronutrientes como el zinc. Con base en lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la aplicación foliar de quelato y edáfica de sulfato de hierro en el contenido mineral, composición nutricional, y compuestos bioactivos del grano de frijol variedad Verdín.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización Geográfica y Clima

El estudio se llevó a cabo en el campo agrícola experimental de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), situado en el municipio de Centro, Tabasco, México, en las coordenadas 17° 46' 56" N y 92° 57' 28" O, a 21 metros de altitud. El clima del sitio experimental es cálido húmedo, las temperaturas mínimas y máximas durante el ciclo del cultivo fueron de 19.0 y 36.2 °C, y la precipitación de 310 milímetros.

Características Físicas y Químicas del Suelo

El suelo tiene 35% de arena, 20% de limo y 45% de arcilla (método de Bouyoucos), densidad aparente de 1.35 g cm³ (método del cilindro), materia orgánica de 3.81% (método de Walkley y Black), CE de 287 μS cm⁻¹ (relación suelo:agua 1:5, determinada con conductímetro de mesa modelo HI6321, Hanna Instruments) y pH de 5.94 (relación suelo:agua 1:2 determinado con potenciómetro pH-Meter modelo 2210, Hanna Instruments). Además del contenido de nitrógeno de 0.24 mg kg⁻¹ (método micro Kjeldahl), contenido de hierro, zinc y cobre de 9.9, 1.0 y 2.9 mg kg⁻¹ (extractados en solución de DTPA y cuantificados por absorción atómica en un Espectrofotómetro marca Perkin Elmer Aanalyst 100). El contenido de las bases intercambiables Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Potasio (K) y sodio (Na) fue de 3.51, 0.35, 0.64 y 0.59 g kg⁻¹ (extractados del suelo con una solución de acetato de amonio a pH 7, y luego cuantificados por absorción atómica). Los procedimientos analíticos se realizaron de acuerdo con López-Aguilar, Murillo, Benson, López y Valle (2002).

Material Genético

La variedad Verdín es una variedad mejorada por el INIFAP, la cual tiene la particularidad de tener mayor rendimiento que las variedades cultivadas, mayor resistencia al calor y reducción de tiempo de cosecha, ya que la floración tiene un periodo de 34 a 37 días después de la siembra (dds), y madurez fisiológica entre 67 y 70 dds. Las plantas tienen altura promedio de 59 cm y hábito de crecimiento tipo II. Además de tolerancia a la sequía terminal, la cual ocurre después de la floración, en las etapas de llenado de vainas y madurez fisiológica (Tosquy-Valle et al., 2018).

Siembra y Fertilización

La siembra se realizó en el mes de diciembre bajo condiciones de secano, en surcos de 0.60 m de distancia entre surco y surco, y de 0.20 cm entre planta y planta. En cada punto de siembra se depositaron tres semillas, lo que resultó en una densidad de 250 000 plantas por hectárea. La fertilización se aplicó durante la siembra, utilizando la dosis 64-46-00 de N-P₂O₅-K, recomendada para el cultivo de frijol en el estado de Tabasco (INIFAP, 2015). Como fuente de N se empleó urea (46% N) y para el P fosfato monoamónico (12% N y 61% P₂O₅).

Manejo del Cultivo

Durante el ciclo del cultivo se efectuaron deshierbes a los 8, 15, 30 y 45 dds, se aplicó Oxiclورو de cobre (Cupravit*) a dosis de 2 kg ha⁻¹ a los 16 dds para prevenir antracnosis por exceso de humedad, y se aporcó a los 30 dds. El control de plagas de insectos perforadores y masticadores se realizó con cipermetrina (Arrivo* 200 CE) a los 23 y 33 dds en dosis de 200 mL ha⁻¹ (Tosquy-Valle, López, Acosta y Villar, 2014).

Aplicación Edáfica y Foliar del Hierro

La aplicación foliar se realizó en dosis de 0, 25, 50 y 100 mM de hierro quelatado (EDDHA 6%, Microhow*), aplicadas a los 44, 54 y 64 dds, hasta que las hojas alcanzaron el punto de rocío. Para romper la tensión superficial de las mezclas de aspersión se utilizó como adherente AD300* (PNM International) a razón de 1 mL por litro de agua. Mientras que la aplicación edáfica de sulfato de hierro (Fertifer granulado, Aquachem*) se realizó en dosis de 0, 0.25 y 0.50 g, a una distancia de 5 cm del tallo de las plantas a los 16, 45 y 55 días después de la siembra.

Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la combinación de las aplicaciones foliares (0, 25, 50 y 100 mM) de quelato de hierro y edáficas (0, 0.25 y 0.50 g) de sulfato de hierro. Lo que generó un total de 12 tratamientos que se evaluaron bajo un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 3×4 con tres repeticiones. Correspondiendo el primer factor a las dosis edáficas y el segundo a las dosis foliares.

Cosecha

La cosecha del grano maduro se efectuó a los 80 dds, cuando tenían un contenido promedio de humedad del 14 por ciento.

Variables Evaluadas

Contenido Mineral de los Granos

La determinación mineral se realizó en una muestra de 10 g de granos maduros que se molieron y pasaron por un tamiz de 1 mm. Los minerales determinados fueron el contenido de potasio (K), calcio (Ca), fierro (Fe), zinc (Zn), Manganeseo (Mn) y níquel (Ni) de acuerdo con el procedimiento descrito por Wolf (1982). De la muestra molida de cada tratamiento se tomó 1 g, la cual se sometió a mineralización por digestión triácida. Posteriormente, se cuantificaron los contenidos de K, Ca, Fe, Zn, Mn y Ni mediante espectrofotometría de absorción atómica (Espectrofotómetro Thermo Scientific™, iCE™ 3000 series AAS, Thermo Scientific™). Los resultados para los macronutrientes se reportan en g kg⁻¹. Mientras que los micronutrientes se reportan en miligramo por kilogramo.

Composición Nutricional

Se determinó el contenido de cenizas, grasas y fibra cruda por la metodología de la AOAC (Horwitz, 2002). Mientras que la proteína cruda se determinó de acuerdo con el método de Dumas (Reussi-Calvo, Echeverría y Rozas, 2008).

Compuestos bioactivos y actividad antioxidante. Para los extractos etanólicos, se molieron 10 g de granos de frijol por tratamiento. De los cuales se colocó 1 g de muestra de harina de frijol en un tubo Falcon de 15 mL y se agregaron 10 mL de la mezcla acetona-agua (7:3) y se agitó por 30 min en un agitador (Orbit-Shaker, modelo 3520, Waltham, MA, USA). Luego se centrifugó por 5 min a 7.735 × g a 4 °C (Hermle, modelo Z323K, UKAS, United Kingdom). El sobrenadante se recuperó y el precipitado se sometió a una nueva extracción bajo las mismas condiciones de la primera extracción; para luego filtrar y unir el primer y segundo filtrado y almacenar a -20 °C hasta su uso. La cuantificación de fenoles totales se realizó con el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), mediante la construcción de una curva patrón con ácido cafeico de 10 a 100 µg mL⁻¹. Los resultados se reportan en miligramos de ácido cafeico por gramo de peso seco (mg AC g⁻¹ PS). En tanto que el contenido de flavonoides se determinó de acuerdo con Zhishen, Mengcheng y Jianming (1999), y los resultados se reportan en mg equivalente de catequina g⁻¹ muestra (mg EC g⁻¹ PS). Por otro lado, el contenido de antocianinas totales se calculó mediante el método de pH diferencial propuesto por Wrolstad, Skrede, Lea y Enersen (1990), con la fórmula:

$$\text{Antocianinas totales} = (\text{Abs}_{460} - \text{Abs}_{710}) * 449.2 * 0.2 * \frac{1000}{26\ 900} \quad (1)$$

Donde: 449.2 representa el peso molecular, 0.2 corresponde al factor de dilución, 1000 una constante y 26 900 representa el valor de cianidin-3-glucoside. Los resultados se expresan en mg de cianidina-3-glucosido g⁻¹ de peso seco (mg C3G g⁻¹ PS).

La actividad antioxidante se determinó por el método colorimétrico reportado por Hsu, Chen, Weng y Tseng (2003) que se basa en la capacidad que tienen los compuestos fenólicos de reducir o capturar el radical 1,1-difenil-2-picril hidrazilo hidratado (DPPH). Se preparó una solución de DPPH en metanol al 80%, en cantidad suficiente y se mantuvo en oscuridad a temperatura ambiente. Del extracto enzimático se tomaron 500 µL al que se le agregaron 2500 µL de solución DPPH. La mezcla se dejó reaccionar por 60 minutos en oscuridad a

temperatura ambiente. Para luego realizar la lectura de absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-VIS 6405, marca JENWAY. Los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición (% de inhibición) mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{\text{Muestra} - \text{Blanco}}{\text{Referencia}} \right) * 100 \quad (2)$$

Muestra = se refiere a la absorbancia de la muestra, blanco = se refiere a la absorbancia del blanco y referencia = corresponde a la absorbancia de la referencia que contiene el radical DPPH.

Análisis Estadístico

Se realizó análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo al diseño de bloques al azar con arreglo factorial con las medias obtenidas de las variables evaluadas. Para identificar diferencias entre interacciones y sus factores evaluados se aplicó la prueba de medias DMS ($P \leq 0.05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS Institute, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias ($P \leq 0.05$) en la comparación de medias entre las dosis individuales y las combinaciones (interacciones) foliares y edáficas de hierro (Cuadro 1). Para los efectos individuales los mayores contenidos de hierro se tuvieron con las dosis individuales de 0.50 g edáfico (76.18 mg kg⁻¹) y 100 mM foliar (74.24 mg kg⁻¹), los cuales son superiores en 11.49 y 17.38% a las dosis sin aplicación de hierro edáfico o foliar de forma individual. Mientras que al aplicar el hierro de forma combinada 100 mM foliar y 0.50 g edáfico el contenido de hierro en el grano incrementa hasta 89.98 mg kg⁻¹, valor que es un 75.91% superior a la combinación de 0 mM foliar y 0 g edáfico. Además, el contenido de hierro de las cuatro combinaciones con mayores contenidos de hierro en el grano (100 mM foliar y 0.50 g edáfico, 25 mM foliar y 0.50 g edáfico, 100 mM foliar y 0 g edáfico y, 100 mM foliar y 0.25 g edáfico) superaron los 72 mg kg⁻¹ de hierro indicado por Beebe (2020), para considerar una variedad estándar de frijol biofortificado. Pero además los incrementos de estas combinaciones superan el 29% de incremento reportado para frijoles biofortificados con quelato y sulfato de hierro de forma foliar por Sida-Arreola *et al.* (2015) y al incremento del 42.5% de hierro para frijol criollo biofortificado de forma foliar y edáfica con quelato y sulfato de hierro (Félix, Sánchez-Chávez, De-la-Cruz y Márquez-Quiroz, 2021). Los resultados también respaldan la afirmación de Cakmak *et al.* (2010) que sostiene que el método más eficaz para aumentar el contenido de micronutrientes en los granos es realizar aplicaciones foliares y edáficas de forma simultánea. Además de que se refuerza lo indicado por De Valença *et al.* (2017) y Saeid y Jastrzębska (2017) de que aplicar el hierro de forma conjunta es más eficiente para aumentar el contenido de hierro en las partes comestibles de las plantas. Todas las combinaciones de hierro foliar y edáfico, con excepción de la combinación 0 mM foliar y 0.25 g edáfico, tuvieron mayores contenidos de hierro que la combinación sin hierro. La similitud estadística del contenido de hierro entre no aplicar y aplicar solo 0.25 g edáfico se puede deber, a que la planta tiene problemas para absorberlo por las raíces por la competencia que tiene con otros metales como el zinc, cobre, níquel y condiciones físicas del suelo como el pH (Kok *et al.*, 2018). Además de que el sulfato de hierro para absorberse por las raíces tiene que ser quelatado para no causar daño celular (Schmidt, Thomine y Buckhout, 2020).

Para el contenido de zinc en el grano no se observaron diferencias en la comparación de medias de forma edáfica, aún y cuando se observó una tendencia a disminuir al incrementar la dosis. Mientras que al aplicar hierro de forma foliar se tuvieron diferencias en la comparación de medias, presentando la dosis de 100 mM foliar la mayor disminución de zinc del 25.05% con respecto a no aplicar (0 mM). Para las combinaciones la comparación de medias detectó diferencias ($P \leq 0.05$) en el contenido de zinc, presentando la combinación (0 mM foliar y 0 g edáfico) el mayor contenido de zinc. Mientras que en las combinaciones en las que se aplicó hierro combinado de forma foliar y edáfico el contenido de zinc disminuyó. La disminución del contenido de zinc en el grano al incrementar la dosis de hierro edáfica y foliar de forma individual y en las combinaciones se puede deber al efecto antagonista entre el hierro y el zinc (Saha *et al.*, 2015). Debido a que el hierro compite con el zinc en su absorción, transporte y reacción química dentro de las células vegetales (Rai, Kumar, Mankotia, Swain y Satbhai, 2021). Lo cual pudo disminuir el contenido de zinc en el grano de frijol al incrementar la dosis de hierro foliar y edáfica de forma individual y simultánea. Además, el hierro aplicado de forma foliar está más disponible para moverse al grano, lo que limita la absorción por la raíz del zinc debido a que estos minerales utilizan los mismos transportadores, y tiene baja movilidad en la planta (Hao *et al.*, 2021).

Cuadro 1. Contenido mineral del grano de frijol variedad Verdín biofortificada con hierro.
Table 1. Mineral content of bean variety Verdín the biofortified with iron.

Dosis Foliar	Dosis Edáfica	Hierro	Zinc	Níquel	Manganeso	Calcio	Potasio
mM	g	mg kg ⁻¹			g kg ⁻¹		
0	0	51.15 e	33.49 a	5.88 f	11.20 ab	0.24 b	3.87 a
0	0.25	50.22 e	26.57 abc	6.73 de	8.69 abcd	0.29 ab	2.46 bcd
0	0.50	70.31 bcd	25.21 abc	6.95 bcd	10.76 abc	0.28 ab	3.17 abcd
25	0	67.90 bcd	25.89 abc	6.21 ef	8.33 bcd	0.31 a	2.27 cd
25	0.25	57.22 de	24.56 abc	6.72 de	10.84 abc	0.26 ab	3.56 ab
25	0.50	81.64 ab	32.22 ab	7.42 ab	6.77 d	0.32 a	2.00 d
50	0	65.00 cde	20.88 cd	6.15 f	11.76 a	0.24 b	2.92 abcd
50	0.25	69.57 bcd	28.92 abc	6.82 cd	7.91 cd	0.28 ab	2.29 cd
50	0.50	64.72 cde	14.09 c	7.35 abc	8.57 abcd	0.26 ab	2.90 abcd
100	0	75.51 abc	29.89 abc	6.12 f	8.97 abcd	0.27 ab	3.42 abc
100	0.25	75.51 abc	29.89 abc	6.12 f	8.97 abcd	0.27 ab	3.42 abc
100	50	89.98 a	23.36 bcd	7.68 a	10.76 abc	0.31 a	2.54 bcd
	Pr > F	<.0001	<.0001	<.0001	0.0029	0.0237	0.0035
Foliar	0	66.59 b	28.42 a	6.52 b	10.22 a	0.27 a	3.17 a
	25	67.05 b	27.56 a	6.78 ab	8.65 a	0.30 a	2.61 a
	50	66.43 b	24.96 ab	6.77 ab	9.42 a	0.26 a	2.70 a
	100	74.24 a	21.30 b	6.87 a	9.55 a	0.28 a	2.89 a
	Pr > F	<.0001	<.0365	0.0751	0.0862	0.1267	0.0765
Edáfico	0	64.90 b	28.54 a	6.09 c	10.07 a	0.27 a	3.12 a
	0.25	64.18 b	25.42 a	6.76 b	9.09 a	0.28 a	2.75 a
	0.50	76.18 a	23.72 a	7.35 a	9.22 a	0.29 a	2.65 a
	Pr > F	<.0001	0.0678	<.0001	0.2690	0.0762	0.0679

Letras distintas entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).
 Different letters in columns indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$).

Para el níquel, se observó un comportamiento contrario al del zinc, ya que, al aumentar la dosis individual de hierro foliar o edáfico, se incrementó el contenido de níquel. Lo mismo se observó en las combinaciones, presentando el mayor contenido la combinación con el mayor contenido de hierro foliar y edáfico (100 mM foliar y 0.50 g edáfico). El incremento del contenido de níquel con la dosis de hierro sugiere efecto sinérgico entre estos minerales. En relación a esto, Rahman, Sabreen, Alam y Kawai (2005) señalan que el incremento del hierro y el níquel en la planta ocurre de forma paralela, ya que comparten propiedades químicas y fisiológicas similares. Efectos similares también fueron reportados para frijol criollo biofortificado con hierro por Félix *et al.* (2021).

El manganeso, osciló entre 6.77 y 11.76 mg kg⁻¹, mostrando el mayor contenido la combinación de 50 mM foliar y 0 g edáfico. Mientras que, para el calcio y potasio, los valores oscilaron entre 0.24 y 0.32 mg kg⁻¹ de calcio y de 2.00 a 3.87 mg kg⁻¹ de potasio. Para las combinaciones la dosis de 25 mM foliar y 0.50 g edáfico tuvo el mayor contenido de calcio, aunque de acuerdo a la comparación de medias fue similar al contenido de 10 combinaciones, con excepción de la combinación con 0 mM foliar y 0 g edáfico. Para el potasio se observó que el mayor contenido de potasio se tuvo en la combinación sin hierro foliar y edáfico (0 mM foliar y 0 g edáfico), mientras que las combinaciones con hierro edáfico y foliar disminuyeron el contenido de potasio.

Para la composición proximal del grano (Cuadro 2) la comparación de medias detectó diferencias ($P \leq 0.05$) para los efectos individuales y las combinaciones en todas las variables evaluadas. Al incrementar la dosis edáfica de hierro disminuyó el contenido de cenizas, presentando el mayor contenido la dosis de 0 g edáfico. Mientras que al aplicar el hierro de forma foliar el contenido de cenizas incrementa con la dosis de hierro. Para las combinaciones se observa que al aumentar la dosis de hierro incrementa el contenido de cenizas, presentando

las combinaciones de 25, 50 y 100 mM foliar con 0.50 g edáfico los mayores contenidos de cenizas. Lo cual coincide con Félix, Sánchez, De-la-Cruz y Márquez (2021) quienes reportan que aplicar hierro foliar y edáfico de forma simultánea mejora el contenido mineral del grano de frijol. Pero el contenido de cenizas de la mayoría de las combinaciones y de los efectos individuales de aplicar hierro foliar y edáfico tuvieron contenidos de cenizas mayores de 4.82% reportados para variedades de frijol biofortificadas por métodos genéticos (Brigide, Canniatti y Silva, 2014). Lo cual indica que la biofortificación agronómica de hierro por la vía foliar y edáfica incrementa el contenido total de minerales en el grano de frijol variedad Verdín.

El contenido de proteína osciló entre 21.00 y 24.81%, detectando la comparación de medias diferencias entre las dosis foliares y edáficas aplicadas de forma individual y en combinación. En general, al incrementar la dosis de hierro aumenta el contenido de proteína, presentando la mayor dosis foliar (100 mM, 23.87%), edáfica (0.50 g, 23.44%), y en combinación (100 mM foliar y 0.50 g edáfico, 24.81%) los mayores contenidos de proteína, lo cual puede estar relacionado con el incremento de hierro observado en el grano (Cuadro 1), ya que se reporta correlación positiva entre el contenido de hierro en el grano y el contenido de proteína (Blancquaert, De Steur, Gellynck y van der Straeten, 2017). Para el contenido de grasa se observa que los mayores contenidos se tuvieron cuando no se aplicó hierro (0 mM foliar, 0 g edáfico, 0 mM foliar y 0 g edáfico). Lo que sugiere que el hierro reduce el contenido de grasa en el grano de frijol. En lo referente al contenido de fibra cruda, se observó un efecto contrario, debido a que el contenido de fibras incrementó con la dosis de hierro aplicada de forma individual o combinada. Con valores que oscilaron entre 1.76 y 2.03%, los cuales en general están dentro de los rangos reportados para frijol biofortificado (Brigide et al., 2014).

Cuadro 2. Composición nutricional de los granos de frijol de la variedad Verdín biofortificada con hierro.
Table 2. Nutritional composition of bean grains of the Verdín variety biofortified green with iron.

Dosis Foliar	Dosis Edáfico	Cenizas	Proteína	Grasa	Fibra cruda
mM	g	----- % -----			
0	0	3.20 e	21.00 c	3.76 a	1.76 d
0	0.25	4.01 d	23.45 abc	2.08 bc	2.00 ab
0	0.5	5.08 c	23.40 abc	2.15 b	2.00 ab
25	0	3.91 d	22.91 abc	2.00 bc	1.88 d
25	0.25	4.10 d	24.12 ab	1.30 de	2.01 ab
25	0.5	6.37 ab	21.79 bc	1.45 bcde	2.01 ab
50	0	5.41 b	21.22 bc	1.42 bcde	1.99 ab
50	0.25	6.49 ab	22.44 abc	1.11 e	1.92 cd
50	0.5	6.36 ab	22.35 abc	1.18 e	2.03 a
100	0	5.41 b	23.41 abc	1.33 cde	1.95 bc
100	0.25	6.23 b	24.80 a	1.66 bcde	1.97 abc
100	50	6.87 a	24.81 a	1.08 e	2.03 a
	Pr > F	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Foliar	0	4.45 b	22.00 b	2.66 a	1.92 b
	25	5.43 a	22.30 ab	1.58 b	1.96 a
	50	5.61 a	23.73 a	1.24 b	1.97 a
	100	5.57 a	23.87 a	1.35 b	1.98 a
	Pr > F	0.020	0.214	<.0001	0.017
Edáfica	0	5.90 a	21.13 b	2.13 a	1.89 b
	0.25	5.01 b	23.35 ab	1.54 b	1.98 a
	0.5	4.88 b	23.44 a	1.46 b	2.00 a
	Pr > F	0.032	<.0001	0.000	0.103

Letras distintas en columnas indican diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).
Different letters in columns indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$).

Para el contenido de fenoles totales, flavonoides y antocianinas la comparación de medias no detectó diferencias estadísticas al aplicar el hierro de forma edáfica o foliar de forma individual (Cuadro 3). Mientras que en las combinaciones se observa que al aumentar la dosis de hierro el contenido de los compuestos bioactivos incremento. Para fenoles totales, se observa que las combinaciones con las mayores dosis de hierro foliar aumentaron el contenido de fenoles totales. En contraste, las combinaciones con menor dosis de hierro foliar y con mayor dosis de hierro edáfico, redujeron el contenido de fenoles totales. Lo que se observa en las combinaciones 25 mM foliar y 0 g edáfico y, 0 mM foliar y 0.50 g edáfico. De acuerdo con el máximo contenido (5.66 mg AC g⁻¹ PS) de fenoles totales reportado para frijol, ocho combinaciones registraron contenidos de fenoles totales superiores (Pérez-Pérez *et al.*, 2020). Lo que sugiere que las dosis de hierro aplicadas de forma foliar y edáfica aumentaron el contenido de fenoles totales.

Cuadro 3. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los granos de frijol de la variedad Verdín biofortificada con hierro.
Table 3. Bioactive compound content and antioxidant capacity of iron biofortified Verdín variety bean grains.

Foliar	Edáfica	Fenoles totales	Flavonoides	Antocianinas	Capacidad Antioxidante
mM	g	mg AC g ⁻¹ PS	mg EC g ⁻¹ PS	mg C3G g ⁻¹ PS	%
0	0	5.67 cd	0.54 ab	1.13 bc	86.20 a
0	0.25	5.86 bcd	0.49 b	1.43 abc	84.33 ab
0	0.50	5.39 d	0.57 ab	1.08 bc	85.78 a
25	0	5.21 d	0.53 ab	1.15 bc	83.87 ab
25	0.25	7.24 ab	0.69 a	1.21 bc	81.37 bc
25	0.50	5.76 cd	0.52 ab	1.24 abc	84.04 ab
50	0	5.54 cd	0.47 b	1.29 abc	85.31 a
50	0.25	6.64 abcd	0.67 ab	0.99 c	78.81 c
50	0.50	7.38 a	0.63 ab	1.69 a	84.26 ab
100	0	6.94 abc	0.62 ab	1.46 ab	83.59 ab
100	0.25	6.29 abcd	0.53 ab	1.26 abc	84.23 ab
1000.50	0.50	6.32 abcd	0.62 ab	1.34 abc	85.00 a
	Pr > F	0.0026	0.1368	0.0510	0.0198
	0	5.94 a	0.53 a	1.21 a	85.11 a
Foliar	25	6.07 a	0.58 a	1.20 a	83.09 b
	50	6.52 a	0.59 a	1.32 a	82.79 b
	100	6.22 a	0.59 a	1.35 a	84.26 ab
	Pr > F	0.0727	0.5022	0.3144	0.0254
	0	5.84 a	0.54 a	1.25 a	82.18 b
Edáfica	0.25	6.28 a	0.60 a	1.23 a	84.74 a
	0.50	6.44 a	0.59 a	1.34 a	84.51 a
	Pr > F	0.0637	0.3097	0.2634	0.0003

Letras distintas en columnas indican diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).
Different letters indicate in columns statistically significant differences ($P \leq 0.05$).

El contenido de flavonoides, osciló entre 0.47 y 0.69 mg de catequina g⁻¹ de PS, mientras que el contenido de antocianinas fluctuó entre 0.99 y 1.69 mg C3G g⁻¹ PS, valores que son inferiores al contenido de fenoles totales, lo cual se debe a que los flavonoides y las antocianinas son dos subgrupos de compuestos fenólicos. Al respecto, se sabe que los flavonoides y otros compuestos fenólicos son compuestos secundarios estructuralmente variados presentes en las plantas, y desempeñan diversas funciones de regulación del desarrollo hasta la protección contra radiación UV (Mathesius, 2018), patógenos e insectos (Dinelli *et al.*, 2006); por lo que es importante comprender el efecto del hierro en este compuesto fenólico. Con la excepción de las combinaciones de 0 mM foliar y 0.25 g edáfico y, 50 mM foliar y 0 g edáfico, todas las combinaciones tuvieron contenidos similares de flavonoides de acuerdo a la comparación de medias. Pero en general, el contenido de flavonoides se sitúa dentro del promedio documentado para frijoles de color negro (Oomah, Cardador y Loarca-Piña, 2005; Dinelli *et al.*, 2006). Para el contenido de antocianinas totales, la comparación de medias detectó diferencias ($P \leq 0.05$) entre las combinaciones, con valores que oscilaron entre 0.99 y 1.69 mg C3G g⁻¹ PS, presentando la combinación con 50 mM foliar y 0.25 g edáfico el menor valor. Pero en general, el contenido de antocianinas totales encontrado es similar al reportado por Armendáriz-Fernández, Herrera, Muñoz y Sánchez (2019) para variedades de frijoles de México.

En lo referente a la capacidad antioxidante, la comparación de medias detectó diferencias ($P \leq 0.05$) para la aplicación individual de hierro edáfico y foliar. Para las dosis edáficas, las mayores capacidades antioxidantes se registraron para 0.25 y 0.50 g edáfico, y para la aplicación foliar, la mayor capacidad antioxidante se observó para 0 mM foliar. En tanto que las combinaciones, los valores oscilaron entre 78.81 y 86.20% de capacidad antioxidante, presentando 10 combinaciones contenidos similares según la comparación de medias, lo que indica que el hierro aplicado de forma edáfica y foliar en las combinaciones no tuvo efecto en esta variable. Al respecto, Salinas-Moreno, Rojas, Sosa y Pérez (2005) sugieren que la capacidad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos que dan color a la cubierta de la semilla y no necesariamente con su contenido de compuestos fenólicos, lo que puede indicar los valores similares observados en casi todas las combinaciones. Los valores encontrados son similares a los reportados por Chávez-Mendoza y Sánchez (2017) y Armendáriz-Fernández *et al.* (2019) para frijoles negros.

CONCLUSIONES

La aplicación simultánea de sulfato y quelato de hierro de forma edáfica y foliar en dosis específicas es efectiva para aumentar el contenido de hierro en el grano de frijol. Lo que respalda la idea de que la combinación de aplicación foliar y edáfica de hierro es efectiva para incrementar el contenido de hierro. La combinación de 100 mM foliar y 0.50 g edáfico fue efectiva para incrementar el contenido de hierro en un 75.91%, además del contenido de níquel (30.61%) y calcio (29.17%), mientras que el contenido de zinc (30.25%) y potasio (34.37%) disminuyeron, lo que destaca la importancia de equilibrar la dosis edáfica y foliar para evitar la interferencia del hierro con minerales esenciales. Se observaron cambios significativos en la composición proximal, con reducción del contenido de grasa y aumento del contenido de fibras, proteínas y compuestos bioactivos (fenoles totales, flavonoides y antocianinas), los cuales pueden tener implicaciones importantes en la calidad nutricional del grano de frijol biofortificado.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles con el autor correspondiente a solicitud razonable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

FINANCIACIÓN

No aplicable.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización y metodología: J.W.F. y E.C.L. Protocolo de laboratorio y supervisión: E.S.CH. y J.W.F. Análisis estadísticos y revisión de resultados: E.C.L. y P.P.R. Escritura: E.C.L. y J.W.F. Revisión y edición: P.P.R.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca otorgada al primer autor para realizar sus estudios de Maestría en Ciencias.

LITERATURA CITADA

- Armendáriz-Fernández, K. V., Herrera-Hernández, I. M., Muñoz-Márquez, E., & Sánchez, E. (2019). Characterization of bioactive compounds, mineral content, and antioxidant activity in bean varieties grown with traditional methods in Oaxaca, Mexico. *Antioxidants*, 8(1), 1-17. <https://doi.org/10.3390/antiox8010026>.
- Ates, D., Ascioğul, T. K., Nemli, S., Erdogmus, S., Esiyok, D., & Tanyolac, M. B. (2018). Association mapping of days to flowering in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by DArT markers. *Molecular Breeding*, 38(113), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0868-0>
- Beebe, S. (2020). Biofortification of common bean for higher iron concentration. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 1-6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.573449>
- Blancquaert, D., De Steur, H., Gellynck, X., & Van Der Straeten, D. (2017). Metabolic engineering of micronutrients in crop plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1390(1), 59-73. <https://doi.org/10.1111/nyas.13274>
- Brigide, P., Canniatti-Brazaca, S. G., & Silva, M. O. (2014). Nutritional characteristics of biofortified common beans. *Food Science and Technology*, 34(3), 493-500. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6245>.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W. H., & McClafferty, B. (2010). Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry*, 87(1), 10-20. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-1-0010>
- Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22(8), 1-32. <https://doi.org/10.3390/molecules22081360>
- Connorton, J. M., Balk, J., & Rodríguez-Celma, J. (2017). Iron homeostasis in plants - a brief overview. *Metallomics*, 9(7), 813-823. <https://doi.org/10.1039/c7mt00136c>
- Dinelli, G., Bonetti, A., Minelli, M., Marotti, I., Catizone, P., & Mazzanti, A. (2006). Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry*, 99(1), 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.028>
- De Valença, A. W., Bake, A., Brouwer, I. D. & Giller, K. E. (2017). Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security*, 12, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.12.001>
- Félix, J. W., Sánchez-Chávez, E., De-la-Cruz-Lázaro, E., & Márquez-Quiroz, C. (2021). Edaphic and foliar biofortification of common black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with iron. *Legume Research*, 44(2), 192-196. <https://doi.org/10.18805/LR-553>
- Finkelstein, J. F., Haas, J. D. & Mehta, S. (2017) Iron-biofortified staple food crops for improving iron status: a review of the current evidence. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.01.003>
- Hao, B., Ma, J., Jiang, L., Wang, X., Bai, Y., Zhou, C., ... & Wang, Z. (2021). Effects of foliar application of micronutrients on concentration and bioavailability of zinc and iron in wheat landraces and cultivars. *Scientific Reports*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02088-3>
- Horwitz, W. (2002). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists 17th edition*. Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Hsu, C. L., Chen, W., Weng, Y. M., & Tseng, C. Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 83(1), 85-92. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00053-0)
- Huertas, R., Karpinska, B., Ngala, S., Mkandawire, B., Maling'a, J., Wajenjeche, E., ... & Foyer, C. H. (2023). Biofortification of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with iron and zinc: Achievements and challenges. *Food and Energy Security*, 12(2), 1-27. <https://doi.org/10.1002/fes3.406>
- INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). (2015). *Agenda técnica agrícola de Tabasco*. Ciudad de México, México: INIFAP. ISBN: 978-607-7668-16-9
- Kok, A. D. X., Yoon, L. L., Sekeli, R., Yeong, W. C., Yusof, Z. N. B., Song, L. K., ... & Iqbal, A. (2018). Iron biofortification rice: Progress and prospects. In: F. Shah, Z. H. Khan, & A. Iqbal (Ed.). *Rice Crop - Current Developments* (pp. 25-44). London, United Kingdom: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73572>
- Lara-Flores, M. (2015). El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria*, 16(2), 1-11.
- López-Aguilar, R., Murillo-Amador, B., Benson-Rosas, M., López-Arce, E., & Valle-Meza, G. (2002) *Manual de análisis químico de suelos*. Baja California Sur, México: CIBNOR. ISBN: 970-18-8541-4
- Mathesius, U. (2018). Flavonoid functions in plants and their interactions with other organisms. *Plants*, 7(2), 1-3. <https://doi.org/10.3390/plants7020030>
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2019>

- Pérez-Perez, L. M., Toro Sánchez, C. L. D., Sánchez Chavez, E., González Vega, R. I., Reyes Díaz, A., Borboa Flores, J., ... & Flores-Cordova, M. A. (2020). Bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México, mediante un sistema gastrointestinal in vitro. *Biotecnia* 22(1), 117-125.
- Rahman, H., Sabreen, S., Alam S., & Kawai, S. (2005). Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, 28(3), 393-404. <https://doi.org/10.1081/PLN-200049149>.
- Rai, S., Kumar, S.P., Mankotia, S., Swain, J., & Satbhai, S.B. (2021). Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. *Plant Stress*, 1, 100008. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100008>
- Reussi-Calvo, N. I., Echeverría, H. E., & Sainz-Rozas, H. (2008). Comparación de métodos de determinación de nitrógeno y azufre en planta: Implicancia en el diagnóstico de azufre en trigo. *Ciencia del Suelo*, 26(2), 161-167.
- Rodríguez, L., Mendez, D., Montecino, H., Carrasco, B., Arévalo, B. Palomo, I., & Fuentes E. (2022) Role of *Phaseolus vulgaris* L. in the prevention of cardiovascular diseases-cardioprotective potential of bioactive compounds. *Plants*, 11, 1-30. <https://doi.org/10.3390/plants11020186>
- Saeid, A., & Jastrzębska, M. (2017). Agronomic biofortification as a key to plant/cereal fortification in micronutrients. In: A. Saeid, & M. Jastrzębska (Eds.). *Food Biofortification Technologies* (pp.1-59). Boca Raton, FL, USA: CRC Press. ISBN: 9781351228350
- Saha, S., Mandal, B., Hazra, G. C., Dey, A., Chakraborty, M., Adhikari, B., ... & Sadhukhan, R. (2015). Can agronomic biofortification of zinc be benign for iron in cereals? *Journal of Cereal Science*, 65, 186-191. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.007>
- SAS Institute. (2009). *Statistical Analysis System SAS/STAT User's Guide. version 9.2*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Salinas-Moreno, Y., Rojas-Herrera, L., Sosa-Montes, E., & Pérez-Herrera, P. (2005). Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia*, 39(4), 385-394.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2021). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Consultado el 22 de septiembre, 2022, desde, <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Sida-Arreola, J. P., Sánchez-Chávez, E., Ávila-Quezada, G. D., Zamudio-Flores P. B., & Acosta-Muñiz, C. H. (2015). Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant Soil Environmental*, 61(12), 573-576. <https://doi.org/10.17221/643/2015-PSE>
- Singleton, V.L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Schmidt, W., Thomine, S., & Buckhout, T. J. (2020). Editorial: Iron nutrition and interactions in plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01670>
- Sperotto, R. A., & Ricachenevsky, F. K. (2017). Common bean Fe biofortification using model species' lessons. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02187>
- Stangoulis, J. C., & Knez, M. (2022) Biofortification of major crop plants with iron and zinc - achievements and future directions. *Plant Soil*, 474(1), 57-76. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05330-7>
- Tosquy-Valle, O. H., López-Salinas, E., Ibarra-Pérez, F. J., Villar-Sánchez, B., Rodríguez-Rodríguez, J. R., Acosta-Gallegos, J. A., & Beebe, S. (2018). Registration of 'Verdín', an Early-Season, Opaque Black-Seeded Bean Cultivar. *Journal of Plant Registrations*, 12(1), 13-18. <https://doi.org/10.3198/jpr2016.11.0068crc>
- Tosquy-Valle, O. H., López-Salinas, E., Acosta-Gallegos, J. A., & Villar-Sánchez, B. (2014). Detección de líneas de frijol negro con adaptación en el trópico húmedo del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(6), 911-921. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i6.878>
- Wolf, B. (1982). A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosis crop nutrients status. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 13(12), 1035-1059. <https://doi.org/10.1080/00103628209367332>
- Wrolstad, R. E., Skrede, G., Lea, P., & Enersen, G. (1990). Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science*, 55(4), 1064-1066
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.