



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
Facultad de Química
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**“LA SEQUÍA Y SU EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO Y
LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y NUTRACÉUTICA DE
FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.)”**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

IBQ. Mayra Denise Herrera

DIRIGIDA POR:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Dr. Jorge Alberto Acosta Gallegos

Centro Univesitario
Querétaro, Qro.
Noviembre 2013
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“La sequía y su efecto sobre el rendimiento y la calidad nutrimental y nutracéutica de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta:

IBQ. Mayra Denise Herrera

Dirigido por:


Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente


Firma

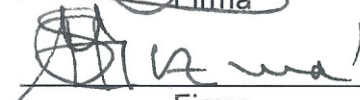
Dr. Jorge Alberto Acosta Gallegos
Co-Director


Firma

Dr. Irineo Torres Pacheco
Secretario


Firma

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado
Vocal


Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente


Firma
M.S.P. Sergio Pacheco Hernández

Director de la Facultad


Dr. Irineo Torres Pacheco

Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre de 2013
México

RESUMEN

En México la sequía intermitente afecta el frijol de temporal lo que genera al final del ciclo un bajo rendimiento, afectando la calidad y el tamaño de grano. Actualmente existen pocos estudios que demuestren el efecto de la sequía sobre la calidad nutracéutica y nutrimental del frijol. El objetivo es determinar el rendimiento y caracterizar la calidad del grano de tres variedades de frijol Pinto sometidas a un déficit hídrico en la etapa reproductiva y durante las etapas de desarrollo del cultivo (vegetativa y reproductiva). Se utilizaron las variedades Pinto Durango (PD), Pinto Saltillo (PS) y Pinto Rarámuri (PR) las cuales se sembraron en invernadero y se cultivaron bajo tres condiciones de humedad: riego (R), sequía severa durante la etapa reproductiva (SS) y sequía constante durante el desarrollo de la planta (SC). Se utilizó un diseño factorial 3 X 3 en bloques completos al azar. En riego, el suelo se mantuvo al 70% de la capacidad de campo, en sequía severa se suspendió el riego al inicio de la floración y en sequía constante el suelo se mantuvo a 40% de la capacidad de campo durante todo el ciclo vegetativo. En la madurez fisiológica se realizó la cosecha y se determinó el rendimiento, observando que bajo una SC moderada se obtuvieron valores superiores que lo obtenido en R para las tres variedades, siendo significativo PR y PS con 304 y 289 g·m⁻² respectivamente. Por otro lado, el tamaño de grano fue superior en la variedad PD bajo SC con 42.6 g/100 semillas. Se realizó la cocción del frijol y se liofilizó, encontrando diferencias importantes en el contenido de lípidos con 3.7 % y 3.1 % para PD y PR en SC respectivamente. El contenido de hierro aumentó de 49-78 % en SS y zinc de 19-39 % en SC comparando con el control (PD, R). La fibra total tuvo valores superiores para todas las variedades sometidas a SS principalmente PD y PS (25.4 y 27.8 % respectivamente) y almidón resistente con 16.5, 17.13 y 19 % para PD, PR y PS respectivamente. Los oligosacáridos también incrementaron con la SC. Se realizó la cuantificación de fenoles totales obteniéndose valores de 1.7-4 mg eq. ácido gálico/g, taninos condensados con 0.9-6.1 y Flavonoides con 0.6-1.9 mg eq. catequina/g y antocianinas con 6.1-15.9 mg eq. de cianidin-3-glucósido/kg, presentando valores superiores en todos los casos para las variedades obtenidas bajo SC. Los ácidos fenólicos que se incrementaron con la SC fueron ácido protocatecónico (4-6.8 µg/g), hidroxibenzóico (3.6-4 µg/g), clorogénico (3.9-6.7 µg/g), ferúlico (2.6-2.64 µg/g) y salicílico (1.1-3.9 µg/g). Lo anterior se reflejó en una mejor capacidad antioxidante evaluada mediante la inhibición de la oxidación de la LDL con un IC₅₀ de 1.4-2.8 mg/mL comparado con el control de 7.3 mg/mL, por otro lado la capacidad para inhibir el radical óxido nítrico fue de 5.7-8.6 mg/mL y para el control de 19.5 mg/mL. La sequía constante puede ser una alternativa de cultivo, ya que incrementa el rendimiento y la calidad nutracéutica de variedades mejoradas del frijol.

Palabras clave: Frijol común, sequía, rendimiento, calidad nutrimental, calidad nutracéutica

SUMMARY

In México, common bean produced in rainfed is affected by intermittent drought which results in a low yield, affecting seed size and quality. Currently there is a lack of studies that reveal the effect of drought on nutrimental and nutraceutical quality of the grain. The objective was to determinate seed yield and to characterize the quality of three varieties of Pinto bean produced under a water deficit in the reproductive stage and during stages of development of the cultivar (vegetative and reproductive stages). Bean varieties Pinto Durango (PD), Pinto Saltillo (PS) and Pinto Rarámuri (PR) were sowed in greenhouse conditions under three soil moisture treatments: irrigation (Ir), severe drought during the reproductive stage (SD) and a constant drought during the stages of development of the cultivar (CD). A factorial design 3 X 3 with randomized completed blocks was used. With irrigation, soil moisture remained at 70 % of field capacity, with severe drought irrigation was suspended at the beginning of flowering and with constant drought soil moisture remained at 40 % of field capacity during the developing of plants. At physiological maturity common bean was harvested and crop yield was determined. In CD conditions, values were higher than the obtained in Ir for the three varieties, obtaining significant values for PR and PS with 304 and 289 g·m⁻² respectively. On the other hand, seed size was greater for PD cultivated under CD with 42.6/100 seeds. After the grain was cooked and freeze dried significant differences in lipid content were found with 3.7 % and 3.1 % for PD and PR respectively compared with the control (PD, Ir). The iron content increase 49-78 % in SD and zinc 19-39 % in CD comparing with the control. The total fiber content was higher for all varieties cultivated under SD, predominantly PD and PS (25.4 and 27.8 % respectively) and resistant starch with 16.5, 17.13 and 19% for PD, PR and PS respectively. The oligosaccharides also increase with CD. The content of total phenols was determined obtaining 1.7-4 mg eq. galic acid/g, condensed tannins: 0.9-6.1 and flavonoids: 0.6-1.9 mg eq. catechin/g and anthocyanins: 6.1-15.9 mg eq. cianidin-3-glucoside/kg, with higher content of these components in all varieties obtained under CD. The phenolic acids that were increased with CD were protocatechuic (4-6.8 µg/g), hydroxybenzoic (3.6-4 µg/g), chlorogenic (3.9-6.7 µg/g), ferulic (2.6-2.64 µg/g) and salicylic (1.1-3.9 µg/g). It was obtained a better antioxidant capacity evaluated by the inhibition of LDL oxidation with 1.4-2.8 mg/mL of IC₅₀ comparing with the control with 7.3 mg/mL, on the other hand, the oxide nitric radical scavenging capacity results were 5.7-8.6 mg/mL and 19.5 mg/mL for the control. Therefore, a constant drought could be a production alternative since increase yield and nutraceutical quality of improved bean varieties.

Key words: Common bean, drought, crop yield, nutrimental quality, nutraceutical quality

DEDICATORIAS

A mi amado esposo Edrei Clingan

A mi mamá Soledad Leyva

A mis hermanas Vilma, Ashley y Marimar

Sobre todo y más importante, a Dios

“Y todo lo que hagáis, hacedlo de corazón, como para el Señor y no para los hombres; sabiendo que del Señor recibiréis la recompensa de la herencia, porque a Cristo el Señor servís”... Colosenses 3:23-24

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por la oportunidad que me dio de realizar mis estudios de posgrado; por las personas y los medios que Él usó para realizar este proyecto:

Al H. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, por aceptarme como alumna para desarrollar este proyecto de investigación.

A la Dra. Rosalía Reynoso por aceptar ser directora de este proyecto y compartir sus conocimientos y tiempo; sobre todo el apoyo que siempre recibí tanto académica como personalmente.

A mi co-director, Dr. Jorge Alberto Acosta Gallegos de quien aprendí mucho del trabajo en campo. Por sus aportaciones en este proyecto de investigación y por permitirme ser parte de su equipo de trabajo durante este tiempo.

A mis sinodales: Dr. Irineo Torres Pacheco, Dr. Horacio Guzmán Maldonado y Dra. Minerva Ramos Gómez por sus recomendaciones y observaciones para mejorar este trabajo de tesis.

A mis amigos Karen Velázquez, Mireya Gutiérrez, Emmanuel Cervantes y Dania Martínez por ser un apoyo en lo académico y en lo personal.

A José Carlos Cueto, Alfredo Trujillo y Oscar Zamorano, parte importante en el desarrollo de este proyecto, por su esmero y servicio en las actividades que les fueron asignadas.

A mis compañeros de laboratorio Mireya, Dania, Marely, Iza y Diana, por su paciencia y comprensión al compartir el espacio y herramientas de trabajo y la ayuda que recibí de su parte.

A mi esposo Edrei por su amor, apoyo y comprensión. Por ayudarme durante esta etapa de mi vida y compartir conmigo los momentos buenos y no tan buenos de esta experiencia.

Por el tiempo de vida que Dios le dio a mi papá, porque aunque por mucho tiempo no lo comprendí, lo usó para moldear mi carácter y hacer de mí la persona que ahora soy.

Al resto de mi familia, amigos y maestros.

ÍNDICE

	Página
Resumen	
Summary	
Índice	v
Índice de figures	viii
Índice de cuadros	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	3
2.2 Producción nacional de frijol	3
2.3 Composición química del frijol	4
2.3.1 Carbohidratos	4
2.3.2 Fibra dietaria	5
2.3.3 Lípidos	6
2.3.4 Proteína	6
2.3.5 Minerales	7
2.3.6 Compuestos fenólicos	8
2.3.7 Compuestos antinutricios	8
2.4 Variedades de frijol común tipo Pinto	8
2.4.1 Pinto Saltillo	9
2.4.2 Pinto Durango	10
2.4.3 Pinto Rarámuri	11
2.5 Sequía	11
2.5.1 Sequía en México	11
2.6 Efecto de la sequía en las plantas de frijol	13
2.6.1 Fotosíntesis	14
2.6.2 Rendimiento	15
2.6.3 Síntesis de proteínas	16
2.6.4 Contenido de carbohidratos	17
2.6.5 Tiempo de cocción	19
III. JUSTIFICACIÓN	21
IV. HIPÓTESIS	22

V.	OBJETIVOS	23
5.1	Objetivo general	23
5.2	Objetivos particulares	23
VI.	METODOLOGÍA	24
	Estrategia de trabajo 1	24
6.1	Materiales	24
6.1.1	Material	23
6.2	Producción de frijol	24
6.3	Determinación de rendimiento	25
6.4	Determinación de la calidad del grano de frijol	26
6.4.1	Determinación del tamaño del grano	26
6.4.2	Determinación de la capacidad de absorción de agua	26
	Estrategia de trabajo 2	26
6.5	Cocción del frijol	26
6.6	Análisis proximal	27
6.6.1	Proteína total	27
6.6.2	Extracto etéreo	27
6.6.3	Cenizas	28
6.6.4	Fibra dietaria	28
6.6.5	Carbohidratos	29
6.7	Cuantificación de almidón resistente	29
6.8	Cuantificación de hierro y zinc	30
	Estrategia de trabajo 3	30
6.9	Digestibilidad proteica	30
	Estrategia de trabajo 4	31
6.10	Determinación de oligosacáridos	31
6.10.1	Extracción de oligosacáridos	31
6.10.2	Identificación y cuantificación de oligosacáridos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	31
6.11	Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos	32
6.12.1	Extracción de compuestos fenólicos	32
6.12.2	Cuantificación de fenoles totales	32
6.12.3	Cuantificación de taninos condensados	32
6.12.4	Cuantificación de flavonoides	33

6.12.5 Cuantificación de antocianinas	33
6.13 Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	34
6.14 Evaluación de capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	35
6.14.1 Evaluación del efecto antioxidante sobre la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL)	35
6.14.2 Evaluación de la capacidad de inhibición del radical óxido nítrico	36
6.15 Análisis estadístico	36
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES	38
Estrategia de trabajo 1	38
7.1 Número de vainas por planta	38
7.2 Número de granos por vaina	39
7.3 Estimación de rendimiento por m ²	40
7.4 Tamaño de grano de frijol común	42
7.5 Capacidad de absorción de agua	44
Estrategia de trabajo 2	45
7.6 Análisis proximal	45
7.7 Contenido de hierro y zinc	49
7.8 Contenido de fibra y almidón resistente	50
Estrategia de trabajo 3	53
7.9 Digestibilidad proteica <i>in vitro</i>	53
Estrategia de trabajo 4	54
7.10 Contenido de oligosacáridos	54
7.11 Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos	57
7.12 Compuestos y ácidos fenólicos detectados por HPLC	60
7.13 Capacidad antioxidante	65
VIII. CONCLUSIONES	68
XI. ANEXOS	69
X. BIBLIOGRAFIA	83

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Grano de frijol tipo Pinto Saltillo	9
2.	Grano de frijol Pinto Durango	10
3.	Grano de frijol de la variedad Pinto Rarámuri.	11
4.	Precipitación media anual en México en los años 2005-2011	12
5.	Componentes morfológicos del grano de frijol común	20
6.	Condiciones de humedad	25
7.	Número de vainas por planta en tres variedades de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	38
8.	Número de granos por vaina en tres variedades de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	40
9.	Rendimiento estimado por m ² en tres variedades de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	41
10.	Tamaño de grano de tres variedades de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	42
11.	Imágenes representativas del tamaño de grano de tres variedades de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	43

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química del frijol común	5
2. Capacidad de absorción de agua en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	44
3. Análisis proximal de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	48
4. Contenido de hierro y zinc en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	49
5. Contenido de fibra total, soluble e insoluble y almidón resistente en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	52
6. Digestibilidad proteica de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	53
7. Contenido de oligosacáridos en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	56
8. Concentración de compuestos fenólicos en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	59
9. Concentración de ácidos fenólicos detectados a $\lambda = 260$ nm en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	62
10. Concentración de ácidos fenólicos detectados a $\lambda = 280$ nm en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	63
11. Concentración de ácidos fenólicos detectados a $\lambda = 320$ nm en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad	64
12. Capacidad inhibitoria de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad para inhibir el radical óxido nítrico	66
13. Capacidad inhibitoria de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad para inhibir la oxidación de la LDL	66

I. Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los cultivos más antiguos de América, y es la leguminosa de grano más importante para consumo humano directo en el mundo. Se cultiva extensamente en diferentes partes del mundo, especialmente en América Latina, África Oriental y el Caribe, bajo un amplio rango de ambientes y sistemas de producción (Blanco *et al.*, 1995; Lépiz, 2000). México es parte del centro de origen de la especie. El frijol ocupa el segundo lugar en superficie sembrada en nuestro país, representa además la segunda actividad agrícola más importante por el número de productores dedicados a este cultivo (Jiménez *et al.*, 2009).

El frijol común es actualmente considerado como un alimento funcional, debido a su elevada variedad de fitoquímicos, como los compuestos nutraceuticos, los cuales aportan beneficios a nuestro organismo. Esta leguminosa es una fuente económica de proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales y es también una excelente fuente de fibra soluble e insoluble (Bennink *et al.*, 2008; Guzmán *et al.*, 2002; Reynoso *et al.*, 2006).

Sin embargo, la calidad de grano de frijol que llega al consumidor depende de las características de las semillas en el momento de la cosecha, el manejo del grano recolectado, condiciones de almacenamiento y tecnología de procesamiento. A su vez, las características del grano en la cosecha están determinadas por el genotipo del cultivar y por factores bióticos y abióticos ambientales que influyen durante el crecimiento y desarrollo de la planta (Kigel, 1999).

Un factor abiótico de gran importancia para el cultivo del frijol es el estrés hídrico, constituye una de las principales limitantes para el rendimiento y calidad del grano. La sequía intermitente registrada comúnmente en el altiplano de México, principal región productora, puede afectar el cultivo de frijol en diferentes etapas fenológicas y cuando coincide con la floración y se prolonga puede causar la pérdida del cultivo. Varios factores influyen en la incidencia de la sequía, entre los que sobresalen la escasez y errática distribución de la

lluvia; así como, los suelos con baja capacidad de retención de humedad (Moreno, 2009; Rosales *et al.*, 2009).

Según Huerta *et al.* (2010), la sequía es uno de los factores ambientales limitantes más importantes para la agricultura en todo el mundo. La sobrevivencia de las plantas, y por lo tanto la productividad del cultivo, depende en gran medida de la capacidad de adaptarse, responder y tolerar tales condiciones ambientales variables. El rendimiento es la principal característica estudiada bajo diversas condiciones de estrés, sin embargo, la calidad del grano cosechado bajo condiciones adversas, incluye una serie de características importantes para los consumidores e industriales.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la sequía severa durante la etapa reproductiva y constante en las dos fases de desarrollo de las plantas, sobre el rendimiento y las propiedades nutricionales y nutraceuticas de tres variedades mejoradas de frijol común tipo Pinto.

II. Antecedentes

2.1 Frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

Dentro del grupo de las especies leguminosas, el frijol común es una de las más importantes. Es una planta anual, herbácea intensamente cultivada desde la zona tropical hasta las templadas. El frijol pertenece a la familia de las leguminosas o fabáceas. Entre las clases más comunes en nuestro país se encuentran los frijoles negros, amarillos, blancos, bayos, pintos y morados. En la actualidad, las variedades más distribuidas comercialmente son los frijoles del tipo pinto, bayo y negro (Broughton *et al.*, 2003; Financiera Rural, 2009).

En la actualidad, el frijol se siembra en los cinco continentes y la semilla de frijol es, después de la soya, la leguminosa de mayor comercialización en el mundo y es particularmente importante en los países en desarrollo, ya que constituye un complemento proteico para alimentos como el maíz y el arroz, los cuales constituyen la fuente más importante de carbohidratos (Bressani, 1983; Graham *et al.*, 2003).

2.2 Producción nacional de frijol

El cultivo del frijol, junto con el cultivo del maíz, constituye en México una tradición productiva y de consumo que cumplen con diversas funciones de carácter alimentario y socioeconómico. El frijol se siembra en todas las regiones agrícolas del país y su cultivo es una de las actividades económicas más importantes del país; ocupa una superficie promedio de 1.8 millones de hectáreas donde se producen 1.14 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 869 kg/ha durante la última década (SIAP, 2010).

El frijol es un producto estratégico para el desarrollo rural, siendo el segundo cultivo nacional, con más de 500,000 productores dedicados a este cultivo. Aproximadamente, el 70% de la producción nacional se obtiene de los estados de Zacatecas, Sinaloa, Durango, Chihuahua, Nayarit, Chiapas, San Luis Potosí y Guanajuato.

La producción de este grano en el ámbito nacional es muy vulnerable a las condiciones climatológicas que se presentan durante el ciclo del cultivo. Esto se debe a que más del 85% de la superficie sembrada con frijol en México carece de infraestructura para cultivar esta leguminosa bajo el sistema de riego, de ahí que el principal factor limitante de la producción se agudiza en regiones con bajo régimen pluvial, provocando la disminución del rendimiento.

Esta disminución se debe a factores que reducen y limitan la producción de este grano. En la zona productora de frijol del norte del estado, además de los factores abióticos que afectan el rendimiento del cultivo, sobre todo en condiciones de temporal, están la irregularidad de la precipitación que ocasiona largos periodos de sequía, cuyos efectos se ven incrementados por los suelos pobres en nutrimentos y con bajo contenido de materia orgánica, condiciones típicas de las regiones semiáridas.

2.3 Composición química del frijol

El frijol común tiene un contenido elevado de proteínas, carbohidratos y baja cantidad de lípidos, aunque es rico en ácido linoléico; es considerado una fuente de vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico), y minerales como calcio, magnesio, hierro, fósforo, potasio y zinc. Es una fuente importante de aminoácidos aromáticos, lisina, leucina e isoleucina (Cuadro 1) (Bennink *et al.*, 2008; Serrano *et al.*, 2004; Vergara, 2011).

2.3.1 Carbohidratos

Los carbohidratos constituyen la principal fracción del grano, aproximadamente el 70 % de la composición química del frijol corresponde a estos compuestos. Los principales tipos de carbohidratos son los polisacáridos amilaseos y los no amilaseos (fibra dietaria), el contenido de almidón es de 43-45%, y de fibra es de 18-20 %. El frijol contiene además pequeñas pero significativas cantidades de oligosacáridos (estaquiosa, verbascosa, y rafinosa) aproximadamente en un 3-5 %. De los carbohidratos presentes, la mayor proporción corresponde a los no digeribles, los cuales son fermentados en el intestino delgado. Entre los carbohidratos no digeribles se incluye

principalmente al almidón resistente, fibra soluble e insoluble y los oligosacáridos no digeribles. Hay estudios que sugieren que el consumo de frijol está relacionado con la reducción de mortalidad causada por cáncer de colon (Reynoso *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Composición química del grano de frijol común.

Componente	Composición	Componente	Composición
Agua (g/100 g)	59.8	Fitatos (mg/g)	13.82 ± 0.57
Energía (Kcal/ 100 g)	110.3	Taninos (mg/g)	13.78 ± 0.57
		Minerales(mg/100 g)	
Proteína (g)	18.4 ± 0.1	Potasio	1424.3
Lípidos (g)	2.3 ± 0.0	Calcio	5.2
ac. grasos saturados (g)	0.22	Magnesio	92.3
ac. grasos monosaturados (g)	0.09	Zinc	2.23
ac. grasos poliinsaturados (g)	0.68	Hierro	6.21
colesterol (mg/100 g)	0	Fosforo	332.12
Cenizas (g)	0.6 ± 0.0	Sodio	43.67
Carbohidratos (g)	64.7	Cobre	0.6
Fibra dietaria total (% materia seca)	27	Manganeso	1.11
Fibra soluble	4.5	Selenio	3.96
Fibra insoluble	22.6	Vitaminas (mg/100 g)	
Almidón resistente	2.6	Vitamina C	8.93
Almidón total (% materia seca)	42.9	Tiamina	0.56
Oligosacáridos (g/100 g)		Riboflavina	0.24
Rafinosa	0.40 ± 0.03	Niacina	1.76
Estaquiosa	3.23 ± 0.18	Vitamina B-6	0.34
Verbascosa	0.12 ± 0.01	Vitamina A	0.21

(Bennink *et al.*, 2008; Vergara, 2011)

2.3.2 Fibra dietaria

La definición clásica de fibra incluye a la fracción de los alimentos derivada de la pared celular de las plantas, que resisten la hidrólisis por las enzimas digestivas en humanos. La fibra se clasifica, según su grado de solubilidad, en soluble e insolubles; la fibra soluble es viscosa y fermentable, en cambio la insoluble no es viscosa y es escasamente fermentable (Vergara, 2011).

El componente soluble es fermentado casi totalmente por la flora bacteriana para producir ácidos grasos volátiles, mientras que el componente insoluble se fermenta sólo una fracción y lo demás se excreta en condiciones pequeñas en las heces (Park *et al.*, 2007)

Se ha reportado que el contenido de fibra dietaria en el frijol común puede cambiar debido al procesamiento que se le da al frijol previo al consumo, este procesamiento genera cambios en la composición y en sus propiedades fisicoquímicas y por lo tanto puede tener diferente influencia fisiológica en el organismo (Kutos *et al.*, 2003)

2.3.3 Lípidos

El frijol es naturalmente bajo en grasa, con pocas grasas saturadas. El contenido de lípidos es sólo del 2 al 4 % del grano seco y los ácidos grasos insaturados representan aproximadamente el 70% del material lipídico. Al igual que con todos los alimentos vegetales, el frijol no contiene colesterol (Bennink *et al.*, 2008).

2.3.4 Proteína

El frijol es una excelente fuente de proteína, típicamente contienen de 20 a 30% de estos compuestos. La proteína de frijol, al igual que en la mayoría de las fuentes de proteínas vegetales, es incompleta (es decir, es deficiente en uno o más de los aminoácidos esenciales), es el caso de los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), que son aminoácidos limitantes en la proteína del frijol.

Siendo el frijol común una de las leguminosas más importantes a nivel mundial, esta especie ha sido propuesta como un modelo de investigación en el almacenamiento de proteínas. La faseolina, miembro del grupo de las globulinas 7S, constituye más del 50% del total de la proteína presente en la semilla de variedades comerciales. Las lectinas también son abundantes junto al inhibidor de α -amilasa, cada uno contribuyendo con el 10% del contenido de proteína en la semilla (Marsolais *et al.*, 2010).

2.3.5 Minerales

El frijol es rico en magnesio, fósforo, cobre y manganeso, es fuente de potasio, calcio y selenio pero bajo en sodio (Bennink *et al.*, 2008; Serrano 2004; Welch *et al.*, 2000). Sin embargo contiene cantidades significativas de hierro y zinc; aportando el 19.1% y 15.9% de las cantidades diarias recomendadas, respectivamente, debido a su baja biodisponibilidad. Beebe *et al.* (2000) han propuesto que tanto el genotipo del cultivar, como el medio ambiente, tienen un efecto significativo en el contenido de minerales en el grano de frijol.

Poco se sabe sobre la causa de la variabilidad genética en la distribución dentro de la semilla del hierro en frijol común. La formación de complejos tanino-Fe y el resultante impedimento de la movilidad del hierro desde la testa de la semilla hacia el embrión, puede explicar dicha variabilidad (Beebe *et al.*, 2000; Lombardi *et al.*, 1995). Según Moraghan (2004), los pigmentos de antocianina, ubicadas en las cubiertas de las semillas de algunos genotipos de frijol común, también puede influir dentro de la distribución del hierro en las semillas.

El frijol común es una leguminosa con un contenido relativamente alto en zinc y por lo tanto es considerado como una importante fuente de este micronutriente en la alimentación humana. Es importante mencionar que este mineral tiene importantes funciones enzimáticas, estructurales y regulatorias en el organismo humano, ya que es co-factor de más de 300 enzimas que regulan diferentes funciones y procesos (Saydelles *et al.*, 2010).

Otra característica es que el zinc contenido en el grano de frijol es altamente biodisponible (House *et al.*, 2002), sin embargo existen compuestos que pueden afectar la biodisponibilidad de este mineral (fitatos y taninos) y su presencia puede reducir la absorción de zinc en el organismo.

Según Moraghan *et al.* (2002), la testa del frijol contiene solo del 7-12 % total del zinc presente en el grano, mientras que la mayor parte se encuentra en los cotiledones.

2.3.6 Compuestos fenólicos

El frijol común contiene un amplio rango de flavonoides, incluyendo los flavonoles, glicósidos, antocianinas, proantocianinas e isoflavones, así como algunos ácidos fenólicos como ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido *p*-cumárico, y ácido ferúlico. Estos compuestos han mostrado tener propiedades antioxidantes; sin embargo, de acuerdo a las condiciones edafoclimáticas y época del año en las que se cultive el frijol, la cantidad de estos compuestos será modulada por las condiciones afectando la calidad nutracéutica del grano (Iniestra *et al.*, 2005; Ze Lin *et al.*, 2007).

Guevara *et al.* (2007) indicaron que existe una correlación importante entre el contenido de compuestos fenólicos y color del grano de frijol; tal es el caso de los flavonoides, antocianinas y taninos condensados, que son más abundantes en los granos de color.

2.3.7 Compuestos antinutricios

Las leguminosas contienen un número de componentes que tienen un potencial benéfico para la salud, así como otros que pueden reducir la biodisponibilidad de algunos nutrientes, estos son considerados como compuestos bioactivos antinutritivos. Entre los compuestos considerados como no nutritivos se puede mencionar a las saponinas, ácido fítico, inhibidores de enzimas (α -amilasa), inhibidor de tripsina, lectinas y algunos compuestos fenólicos (Bennink *et al.*, 2008; Oboh *et al.*, 2008; Serrano *et al.*, 2004; Vergara, 2011).

2.4 Variedades de frijol común tipo Pinto

El programa de mejoramiento genético del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, agrícolas y Pecuarías (INIFAP) ha generado variedades y líneas de frijol con diferente precocidad, alto rendimiento y tolerancia a enfermedades, estas presentan características de interés entre productores e instituciones dedicadas a la investigación científica, entre estas variedades se encuentran Pinto Saltillo, Pinto Durango y Pinto Rarámuri.

2.4.1 Pinto Saltillo

Se derivó de la cruce múltiple: Hidalgo 77///MAM 30///Michoacán 91 A/BAT 76//BAT93/G5653. Esta variedad es de grano mediano, peso de 100 semillas de 27-36 g (Figura 1), ciclo intermedio con tiempo de floración de 35 a 47 días y 73 a 100 días a madurez fisiológica (Sánchez *et al.*, 2004). Las características superiores de la variedad Pinto Saltillo causaron la tendencia de los productores a especializarse en la producción de frijol tipo pinto debido al éxito comercial que tiene en la región semiárida. Los agricultores consideran a Pinto Saltillo como una opción productiva, que les permitió incrementar sus ingresos económicos. Además, la adopción de Pinto Saltillo fue un éxito que beneficia a productores, comercializadores, industriales y consumidores de frijol y representa una alternativa viable, ya que su vida en almacenamiento y anaquel es prolongada, lo cual permite la conservación y transporte del grano sin problemas de oscurecimiento de la testa.

Por otra parte, se ha reportado que la variedad de frijol Pinto Saltillo ha demostrado tener una alta capacidad de producción aún en reducidas condiciones de lluvia siendo ésta una opción para los productores que se dedican a la producción de frijol bajo condiciones de temporal (Ávila *et al.*, 2011).



Figura 1. Grano de frijol Pinto Saltillo.

2.4.2 Pinto Durango

Se desarrolló a partir de la cruce simple: Pinto Sierra/Pinto Nacional-1. Esta variedad muestra un ciclo biológico precoz con 34 a 40 días a floración y 76 a 92 a madurez fisiológica. El grano se clasifica como mediano respecto al peso de 100 semillas de 28-41 g (Figura 2). Esta variedad muestra características morfoagronómicas diferentes a las observadas en Pinto Saltillo. Pinto Durango tiene un crecimiento con porte de planta semierecto y de perfil angosto. En numerosos ensayos de campo ha mostrado resistencia a sequía moderada y antracnosis, tolerancia a roya, así como alto rendimiento (Acosta *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que la variedad Pinto Durango tienen la capacidad de disminuir hasta un 48 % de los niveles altos de glucosa y colesterol en la sangre de ratas diabéticas (García *et al.*, 2007). Por otro lado, en un estudio realizado por Lomas *et al.* (2008) se evaluó el efecto del consumo del frijol en ratas diabéticas; se utilizaron variedades de frijol del tipo Pinto, Negro y Flor de Mayo. Los autores concluyeron que la incorporación de Pinto Durango a la dieta de ratas diabéticas, a partir de un 25 %, disminuye los niveles de colesterol séricos, por lo que puede ser una alternativa para disminuir el riesgo cardiovascular asociado a diabetes.



Figura 2. Grano de frijol Pinto Durango.

2.4.3 Pinto Rarámuri

Pinto Rarámuri es una nueva variedad que se derivó de la cruce simple entre Pinto Bayacora/Pinto Saltillo (Figura 3). Pinto Bayacora se derivó de los mismos progenitores que la variedad Pinto Durango (Rosales *et al.*, 2009)



Figura 3. Grano de frijol de la variedad Pinto Rarámuri.

2.5 Sequía

Los bajos rendimientos en la producción del frijol se deben principalmente a enfermedades, ataque de insectos, sequía, baja fertilidad del suelo y otros tipos de estrés abióticos. La sequía se define como un periodo de clima anormalmente seco que persiste el tiempo suficiente para producir un desequilibrio hidrológico (Haug *et al.*, 2003).

El cambio climático y el desarrollo humano acelerado han provocado que regiones que naturalmente no son áridas o semiáridas comiencen a ser vulnerables a la sequía al consumir y agotar sus reservas de agua. El problema de la sequía es grave y podría agravarse si se considera que las próximas décadas serán críticas en lo que se refiere a la relación demanda/suministro de agua (Vorosmarty *et al.*, 2000).

2.5.1 Sequía en México

En México, las regiones más afectada por la sequía se ubican en el Norte, donde predomina el clima árido y semiárido. Estas regiones ocupan una gran extensión del país y reciben menos del 40 por ciento de la precipitación

total promedio. Además, en el norte se ubica el 90 por ciento de las plantas industriales y el 70 por ciento de las tierras irrigadas, las cuales consumen el 85 por ciento del agua disponible (Cázares *et al.*, 2010).

El promedio de la precipitación anual en el territorio mexicano durante los años 2005-2011 fue de 813 mm (Figura 4) y su patrón de distribución espacial y temporal no ha sido homogéneo (INEGI, 2012).

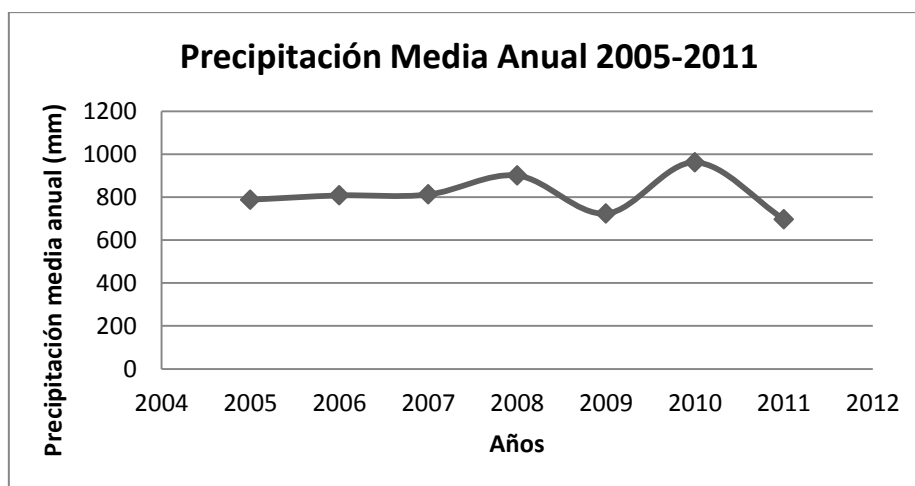


Figura 4. Precipitación media anual en México en los años 2005-2011(INEGI, 2012).

Según Ventura *et al.* (2006), más de la mitad del territorio nacional localizado al norte y en el altiplano recibe sólo 9% de la precipitación media anual, pero tiene al 75% de la población y posee 40% de las tierras agrícolas de temporal; en cambio, en el sureste de México, donde vive solo 24% de la población y la industria tiene un bajo desarrollo, llueve 70% de la precipitación anual.

La sequía en México afecta a 19 Estados de la República (dos terceras partes), se pronostica que persista en los estados que ya la vienen padeciendo y que se extienda e intensifique hacia los del centro de México. Se calcula que hasta un 70% de los productores agrícolas usan sus cosechas para el autoabastecimiento. Son campesinos cuyos cultivos dependen básicamente de la precipitación y sus cultivos son los primeros en ser afectados por la falta de

lluvia. Con la sequía se teme un mayor aumento del precio de los alimentos, que en 2011 ya fue más alto que la inflación (FAO, 2012).

En México, del total de la superficie en que se cultiva el frijol, el 85 % se establece en el ciclo primavera-verano, principalmente bajo condiciones de temporal errático en el altiplano semiárido.

En el 2011, la superficie sembrada con frijol de temporal en México, en el ciclo Primavera-Verano, fue de sólo 1.25 millones de hectáreas, de estas se cosecharon 688 mil con una producción de 368,532 toneladas; es decir, la producción fue aproximada al 35% de lo normal, esto debido a un retraso de la temporada por la escasez de lluvias (SIAP, 2012).

2.6 Efecto de la sequía en las plantas de frijol

El contenido de agua en una planta depende de la proporción entre agua traspirada por las hojas y agua absorbida por la raíz. El déficit hídrico se presenta en situaciones ambientales tales como: déficit de agua (por falta de lluvia o irrigación), por un incremento en la concentración de sales en el suelo (alta salinidad), o por bajas temperaturas que provocan que el agua del apoplasto se congele y, por lo tanto, disminuya la cantidad de agua disponible.

Esta limitación de agua afecta el crecimiento y la producción de las plantas. El grado de afectación depende del genotipo y de la etapa de desarrollo de la que se encuentre la planta en el momento de la restricción hídrica (Yang *et al.*, 2006).

Cuando el déficit hídrico persiste por periodos prolongados, se generan una serie de cambios fisiológicos en la planta, tales como, alteración en la distribución de la biomasa y la fotosíntesis, aumento de la tasa de foto-respiración y, en casos de sequía severa, se produce daño en los cloroplastos y envejecimiento prematuro de las hojas, así como cambios en el contenido de proteínas y minerales.

En frijol no se han identificado caracteres secundarios claramente asociados con la respuesta a sequía. En relación con la respuesta a sequía del frijol, a la fecha se sabe que:

- Las flores y las vainas en las etapas de establecimiento son los órganos susceptibles a sequía, ya que la limitación de agua durante estas etapas promueve el aborto de las flores y vainas reduciendo así la productividad.
- Las variedades de hábito indeterminado que presentan plasticidad fenológica muestran mejores rendimientos frente a la sequía, debido a su adaptabilidad y mayor potencial para acumular biomasa.
- Las raíces de mayor longitud a mayor biomasa, tienen la habilidad de responder adecuadamente a la limitación de agua, por lo que ayudan a mantener la productividad en condiciones de sequía.

Son diversos los efectos que tiene el estrés hídrico en el frijol común, en lo que respecta a la calidad del grano destacan los siguientes:

- Disminución de la fotosíntesis
- Disminución en el rendimiento
- Aumento en la síntesis de proteínas
- Aumento en el contenido de carbohidratos solubles
- Disminución del contenido de almidón
- Aumento en el tiempo de cocción

2.6.1 Fotosíntesis

Bajo estrés hídrico, el déficit de agua en las plantas desarrolla una inhibición significativa de la fotosíntesis.

Cuando la disponibilidad de agua en el suelo disminuye, y consecuentemente baja la absorción de la misma, las plantas limitan la

transpiración cerrando los estomas. Si el cierre de los estomas se prolonga, se reduce la captura de CO₂ y la planta pierde el abasto de moléculas carbonatadas; lo cual afectará el crecimiento, desarrollo y productividad de los cultivos (Bray, 1997).

El decremento en la tasa fotosintética bajo estrés hídrico observado en muchos estudios se explica por la baja concentración interna de CO₂ en la planta, lo que resulta en una limitación del sitio receptor de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) o a la directa limitación de la enzima fotosintética Rubisco o la ATP sintasa (Zlatev *et al.*, 2004).

Sin embargo, existen otros estudios que muestran que el decremento en la tasa fotosintética debido a un déficit de humedad en el suelo, se puede atribuir a las perturbaciones en los procesos bioquímicos, considerando que las limitaciones en los estomas son el evento principal (Chávez, 1991).

2.6.2 Rendimiento

En las leguminosas en general, el estado de reproducción es el estado más sensible a la sequía, es decir, si toma lugar durante la formación de las flores, formación de las vainas o el llenado de las vainas, esto es porque el déficit de agua causa la caída de las estructuras reproductivas, como sucede con el pistilo en el caso de la soya o el polen en el frijol común. De esta manera, una consecuencia de la baja producción de grano durante el estrés hídrico se ve reflejada en una reducción en el rendimiento (Acosta *et al.*, 1989; Castañeda *et al.*, 2008; Kokubun *et al.*, 2001).

La restricción de humedad en la fase reproductiva de frijol disminuye el rendimiento en mayor proporción que cuando sólo afecta la fase vegetativa; durante las etapas de floración, formación de vaina y llenado de grano, disminuye hasta en 50 y 72 % el número de vainas y el rendimiento, lo cual depende de la intensidad del déficit de agua y la tolerancia del cultivar (Aguilar *et al.*, 2012), Núñez *et al.* (2005) registraron una reducción del 60% en el rendimiento de frijol común en condiciones de sequía, lo que se atribuyó a pérdidas del 63% de

las vainas por planta, 29% de semillas en vaina y 22% en el peso de las semillas (tamaño).

2.6.3 Síntesis de proteínas

Las plantas responden al estrés por déficit hídrico a nivel celular y molecular. Una de las principales respuestas al estrés por sequía es la modificación de la expresión génica, relacionada con la producción de enzimas clave en la vía de síntesis de proteínas con función protectora, enzimas antioxidantes, factores de transcripción y otras proteínas involucradas en las respuestas a la sequía.

Una posible explicación para el mayor contenido de proteínas en el frijol cosechado en condiciones de sequía podría ser la síntesis *de novo* de las proteínas de protección. Otro grupo de proteínas que se expresan durante estrés hídrico incluye las de choque térmico, las proteínas transportadoras de iones y aquellas que permiten el transporte de agua (acuaporinas), las proteasas, las cinasas de proteínas, las fosfatasas, las proteínas involucradas en el metabolismo de los fosfolípidos y los factores de transcripción. Por otro lado, se ha reportado que el estrés hídrico en plantas de frijol induce la actividad de enzimas como la ornitina amino transferasa y la concentración de ornitina también incrementa la concentración de prolina y la actividad de la arginasa que, junto con la ornitina, participa en la síntesis de aminoácidos, y por tanto en concentración de proteína en las plantas de frijol cosechadas bajo condiciones de sequía (González *et al.*, 2003; Moreno, 2009).

Otra característica que se ve afectada por el estrés por sequía en el cultivo del frijol es la digestibilidad proteica. En un estudio realizado por González *et al.* (2003) se menciona que es importante medir la digestibilidad de proteína de frijol *in vitro* debido a que el contenido y la composición de aminoácidos en las proteínas de las plantas puede cambiar bajo condiciones de sequía, por tanto esto puede tener un efecto significativo en la digestibilidad proteica.

Otro grupo de proteínas cuya expresión se incrementa durante el estrés hídrico son las enzimas antioxidantes que, junto con compuestos no proteicos, detoxifican a las plantas de los radicales libres. Estos radicales como el superóxido y el peróxido de hidrógeno se generan debido a un aumento en la tasa de fotorreducción del O₂ en los cloroplastos. Entre las principales enzimas están la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la ascorbato peroxidasa (APX), la peroxidasa (POD), la glutatión reductasa (GR) y la monodehidroascorbato reductasa (MDAR) (Moreno, 2009).

Se ha reportado que la sequía incrementa la síntesis de proteínas inhibitorias como el inhibidor de tripsina y α -amilasa. En un estudio realizado por Pergiovanni *et al.*, (2003) sobre el efecto de la variación anual y el genotipo de frijol, reportaron que la lluvia y/o la temperatura durante las etapas de desarrollo afectan la expresión del inhibidor de tripsina. Estudios anteriores sugieren una influencia de la precipitación en la expresión del inhibidor, y una función de la sequía durante el desarrollo de la semilla y su calidad y valor nutritivo.

En el caso del inhibido de α -amilasa, Yang *et al.* (2001) observaron que las enzimas relacionadas con la degradación de almidón como el inhibidor de α -amilasa así como las enzimas relacionadas con la síntesis de sacarosa, la enzima sacarosa fosfosintasa (SPS), se activan en tallos de algunos cereales en respuesta al déficit de agua.

Tofiño *et al.* (2007) sugieren que en respuesta al estrés hídrico la actividad de la ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa) decrece y aumenta la del inhibidor de amilasa.

2.6.4 Contenido de carbohidratos

Oligosacáridos

Son polímeros formados de 2-10 unidades de monosacáridos. El contenido de estos compuestos en el grano de frijol común puede resultar en malestar gastrointestinal (producción de dióxido de carbono y metano que se traduce en flatulencias) por su baja digestibilidad y puede inhibir la absorción de

nutrientes (Beaver *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha sugerido que la baja digestibilidad resulta de la configuración del enlace glucosídico entre las unidades monoméricas del azúcar o la selectividad del sustrato por las enzimas digestivas gastrointestinales. Ciertos oligosacáridos al no ser digeridos, pueden beneficiar al tracto gastrointestinal por la fermentación o la proliferación de bacterias benéficas. Como resultado de la fermentación de estos compuestos se producen ácidos grasos de cadena corta como acético, propiónico y butírico (Hsu *et al.*, 2004).

Se ha reportado que el estrés hídrico por sequía durante el desarrollo de la semilla aumenta el contenido de azúcares solubles en grano (Pasin *et al.*, 1991). En un estudio realizado por Bernardo *et al.*, (2009) se observó que diferentes variedades de frijol producidas bajo condiciones de estrés hídrico mostraron un alto contenido de oligosacáridos.

Marsolais *et al.* (2010) proponen que el incremento en los niveles de rafinosa probablemente se refleja mediante un mecanismo por el cual se mantiene un balance entre el contenido de nitrógeno y carbono.

Almidón

El almidón es el polisacárido de almacenamiento más usado por las plantas y constituye una reserva de carbono. El carbono que las plantas incorporan mediante la fotosíntesis se almacena temporalmente en las hojas en forma de almidón. En las hojas el almidón se degrada para sintetizar sacarosa que se transporta hacia los órganos especializados para el almacenamiento, como la semilla. En la semilla la sacarosa se degrada a hexosas que se consumen en el metabolismo del embrión o se almacenan de nuevo en forma de almidón, el cual servirá de reserva para la nueva plántula.

Según Pasin *et al.* (1991), en los granos de frijol que se obtienen de plantas expuestas a condiciones de sequía se reduce el contenido de almidón. En las plantas la biosíntesis del almidón es sensible al efecto de condiciones ambientales adversas, las cuales actúan sobre el suministro de carbohidratos desde los órganos fuente, la recepción del almidón por los órganos vertedero y

la actividad de las enzimas biosintéticas asociadas. En diferentes especies, incluso en diferentes variedades dentro de la misma especie, la sequía afecta de forma diferente al metabolismo de carbono (Moreno, 2009; Vergara, 2011).

Además del usual proceso refinado de regulación espacio temporal de las enzimas biosintéticas del almidón, el estrés abiótico también afecta la cinética del metabolismo de manera que el balance de los factores ambientales influencia la relación fuente-vertedero y, por tanto, la acumulación final de almidón en los órganos de almacenamiento (Tofiño *et al.*, 2007).

2.6.5 Tiempo de cocción

El tiempo de cocción es una característica importante que debe ser considerada en la evaluación de la calidad del grano de frijol ya que los tiempos de cocción largos (> 60 min) reducen la aceptación de las variedades, y la susceptibilidad del frijol a la cocción excesiva del grano reduce el valor nutrimental de las proteínas; esto está relacionado con el problema de dureza a la cocción que se presenta cuando los cotiledones no se suavizan al momento de cocerlos y la dureza de la testa por lo cual el frijol tiene una baja imbibición del agua (Castellanos *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2005). Se ha reportado que el medio ambiente y las condiciones de cultivo, así como el genotipo del cultivar, influyen de manera significativa en el tiempo de cocción del frijol (Beaver *et al.*, 2009; Kiger, 1999).

Otro factor importante es la absorción de agua; en el frijol libre de daños, la entrada de agua ocurre de manera natural y la absorción de agua está controlada por barreras naturales, como la región del hilio/micrópilo y la testa de la semilla (Figura 11) (Heil *et al.*, 1992).

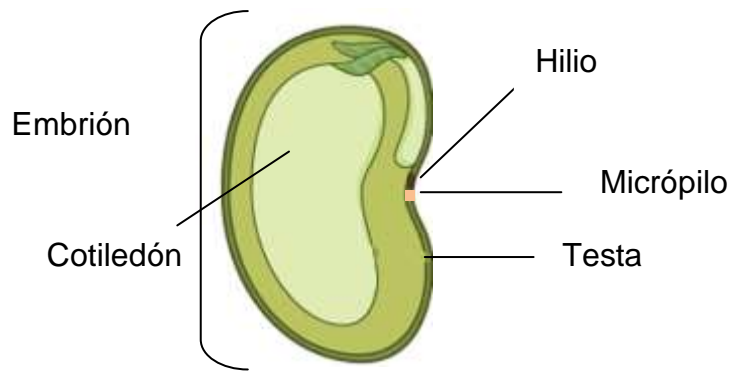


Figura 11. Componentes morfológicos del grano de frijol común

Lo anterior demuestra que las condiciones de sequía afectan el tiempo de cocción y la calidad nutrimental de la semilla de frijol, sin embargo, algunos compuestos considerados como fitoquímicos podrían incrementarse debido a las condiciones adversas de crecimiento.

II. Justificación

En México, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ocupa el segundo lugar por superficie cultivada y el sexto por valor de la producción; su importancia es ancestral ya que una fuente importante de nutrientes y junto con el maíz son la base de la alimentación de la población.

Los factores de calidad nutrimental, como es el caso del contenido proteico, algunos minerales, fenoles, entre otros, son de suma importancia para la dieta de la población, por tanto, es importante conocer los efectos negativos o positivos que ocurren en el grano de frijol de variedades tipo pinto por efecto de la sequía. Las variedades de este tipo de frijol, como lo es Pinto Saltillo, ocupan una superficie importante en la región semiárida del Norte-Centro del país.

IV. Hipótesis

El déficit de humedad en el cultivo de frijol afecta el rendimiento y la calidad nutrimental y funcional del grano; el efecto es más agudo si se presenta en la etapa reproductiva de la planta.

V. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la sequía durante diferentes etapas de crecimiento y desarrollo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el rendimiento y la calidad nutrimental y nutracéutica.

5.2 Objetivos particulares

Estrategias de trabajo

1. Determinar el rendimiento, tamaño de grano y la capacidad de absorción de agua de tres variedades de frijol sometidas a tres condiciones de humedad: riego, sequía severa y sequía constante.
2. Evaluar el efecto de la sequía sobre el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra, almidón resistente, hierro y zinc de frijol cocido cultivado en diferentes condiciones de humedad.
3. Determinar la digestibilidad de las proteínas de frijol en las muestras de frijol cocido.
4. Cuantificar oligosacáridos, fenoles, taninos, antocianinas y ácidos fenólicos en las muestras de frijol cocido.

VI. Metodología

Estrategia de trabajo 1: Determinar el rendimiento, tamaño de grano y la capacidad de absorción de agua de tres variedades de frijol sometidas a tres condiciones de humedad: riego, sequía severa y sequía constante.

6.1 Materiales

6.1.1 Material

Se utilizó grano de frijol de las variedades Pinto Saltillo, Pinto Rarámuri y Pinto Durango producidas en invernadero en el campo experimental Bajío del INIFAP ubicado en Celaya, Guanajuato. Pinto Durango se consideró la variedad de referencia en todas las variables respuesta.

6.2. Producción del frijol

Se sembró semilla de frijol de las tres variedades en invernadero en suelo arenoso de baja capacidad de retención de humedad. Después de un riego uniforme a todo el lote experimental, las semillas se sembraron directamente en el suelo y se fertilizó antes de la siembra con la dosis 50-40-20 de N-P-K.

Los tratamientos de humedad y las variedades se distribuyeron al azar bajo un diseño factorial 3 X 3, los factores fueron las variedades y los tratamientos con las diferentes condiciones de humedad. La unidad experimental consistió en dos surcos de 2.0 m de longitud separados a 70 cm. El cultivo se condujo con luz natural. Se cosechó aproximadamente 90 días después de la siembra (este valor varió según las condiciones de cultivo).

Se probaron tres regímenes de humedad: 1. Riego, en el que las plantas se mantuvieron bajo condiciones óptimas de humedad (70% de humedad en el suelo con respecto a la capacidad de campo) durante todo el ciclo del cultivo; 2. Sequía severa, al suspender el riego al llegar a la fase reproductiva, específicamente al inicio de la floración (los días a floración varían según el genotipo del cultivar y las condiciones de cultivo); 3. Sequía

constante, al aplicar riego para mantener el suelo al 40% de la capacidad de campo a partir del inicio de la floración (Figura 5). Para la aplicación de los tratamientos de humedad, primero se determinó la curva de retención de humedad del suelo en los perfiles de 0 a 30 y 30 a 60 cm de profundidad.

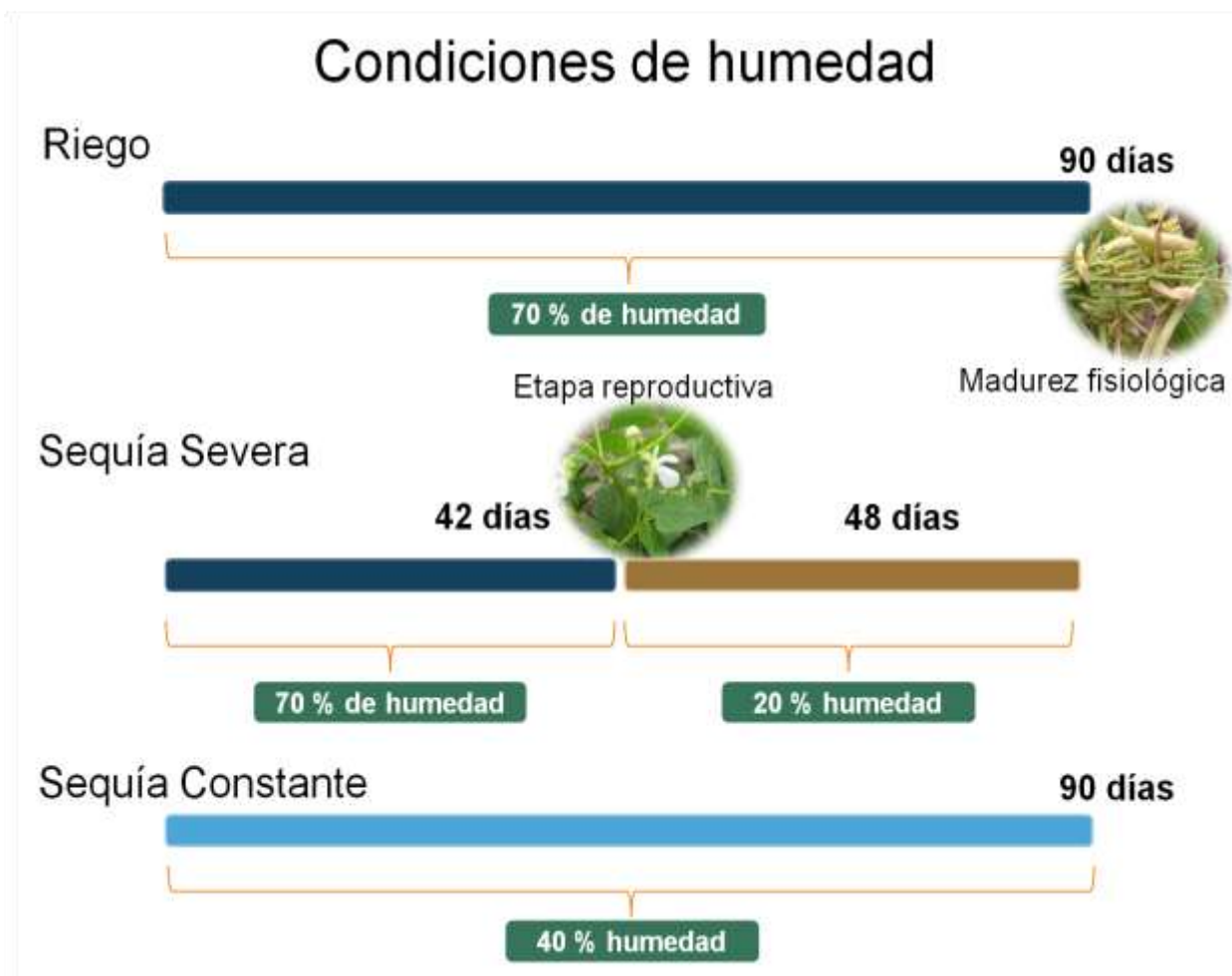


Figura 5. Condiciones de humedad.

6.3 Determinación del rendimiento

Se estimó el rendimiento de frijol por m² de las diferentes variedades utilizadas y bajo las distintas condiciones de humedad.

Al llegar a la madurez fisiológica, se cosechó y trilló una muestra de dos surcos con longitud de 2 m lineales para determinar el rendimiento de grano de frijol.

Después de la cosecha se contó el número de vainas por planta y el número de semillas por vaina en tres plantas tomadas al azar de cada variedad empleada en el experimento cultivada bajo las distintas condiciones de humedad. También se determinó el tamaño del grano de frijol, pesando 100 granos de frijol tomados al azar.

6.4 Determinación de la calidad del grano de frijol

6.4.1 Determinación del tamaño de grano

Después de la determinación del rendimiento, se evaluó el tamaño de grano, esto se hace midiendo el peso de 100 semillas y para ello se tomaron al azar 100 granos en cada muestra.

6.4.2 Determinación de la capacidad de absorción de agua

Después de la cosecha se redujo la humedad del grano de frijol a $90 \pm 5 \text{ g kg}^{-1}$ de semilla a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ y humedad relativa (HR) de $50 \pm 10 \%$, según lo propuesto por Castellanos *et al.* (1995). Para medir la absorción de agua se tomaron al azar 100 granos de frijol y se dejaron en remojo en agua destilada durante 18 h, posteriormente se decantó el agua para medir el peso de los granos. La absorción de agua se expresó como el incremento (% peso/peso) en peso de granos de frijol seco.

Estrategia de trabajo 2: Evaluar el efecto de la sequía sobre el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra, almidón, hierro y zinc de frijol cocido cultivado en diferentes condiciones de humedad.

6.5 Cocción del frijol

El frijol se sometió a un tratamiento térmico de acuerdo con lo propuesto por Aparicio *et al.* (2005), se colocaron 100 g de frijol en 500 mL de agua destilada. La cocción se llevó a cabo por 2.5 h a $90 \pm 1^\circ\text{C}$ aproximadamente. Con la muestra (incluyendo el grano cocido y el caldo de cocción) se formó un homogenizado el cual se liofilizó y almacenó a 4°C hasta su uso en técnicas posteriores.

6.6 Análisis proximal

El análisis proximal se realizó en las muestras de frijol cocido y liofilizado de las tres variedades antes mencionadas cultivadas bajo las diferentes condiciones de humedad.

6.6.1 Proteína total

El contenido de proteína total se determinó de acuerdo con el método de la AOAC (2000) Método Micro-Kjeldalh (número 920.15).

La proteína se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Proteína (\%)} = \text{N}_2 (\%) * 6.25.$$

Donde:

$$\text{N}_2 (\%) = [(V-V_0) * N * \text{Meq} * 100] / M$$

V = mL de H₂SO₄ empleados en la titulación de la muestra

V₀ = mL de H₂SO₄ en el blanco

N = normalidad del H₂SO₄

Meq = miliequivalentes de N₂ = 0.014 g

M = gramos de muestra

6.6.2 Extracto etéreo

El contenido del extracto etéreo se determinó de acuerdo con la AOAC (2000) número 920.15

El cálculo del extracto etéreo se determinó:

$$\text{Extracto etéreo (\%)} = [(P_f - P_o) / M] * 100$$

Donde:

P_f = peso del recipiente antes de la extracción (g)

Po = peso del recipiente después de la extracción (g)

M = peso del frijol (g)

6.6.3 Cenizas

El contenido de cenizas se determinó con el método de la AOAC (2000) número 945.46

Las cenizas se calcularon multiplicando el peso de las cenizas por 100 y se dividió entre la cantidad de la muestra.

6.6.4 Fibra dietaria

Para la determinación del contenido de fibra dietética total (soluble e insoluble) e insoluble del frijol, se empleó el método enzimático-gravimétrico descrito por Prosky *et al.* (1998). Se pesó 1 g de las harinas de frijol cocido previamente desgrasadas por duplicado. Se adicionó 50 mL de solución reguladora de fosfatos 0.08 M pH 6 y 100 μ L de enzima α -amilasa termoestable. Se incubó a temperatura ambiente y posteriormente se adicionaron 10 mL de NaOH 0.275 N para ajustar el pH a 7.5. En seguida, se adicionó 100 μ L de una solución de proteasa (50 mg/mL) preparada con solución de fosfatos. Las muestras se cubrieron con aluminio y se agitaron en baño maría a 60° C durante 30 min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se adicionó 10 mL de HCl 0.325 M y se ajustó el pH a 4-4.6 para posteriormente adicionar 100 μ L de la enzima amiloglucosidasa. Se adicionaron 4 volúmenes de etanol al 95%, se cubrieron y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. Posteriormente se filtraron y el filtrado obtenido se secó y almacenó a temperatura ambiente. Se registró el peso de los filtrados obtenidos, y se determinó el contenido de proteína y ceniza de los mismos.

Para la fibra insoluble se realizó el mismo procedimiento realizado para la fibra dietética total, con la diferencia de que después del tratamiento enzimático a las muestras no se les adicionó etanol.

El porcentaje de fibra dietética total y el porcentaje de fibra soluble se calcularon de la siguiente manera:

$$\%Fibra = [((R_1 + R_2)/2) - \text{proteína} - \text{ceniza}] * 100$$

Donde:

R_1 = peso del precipitado de la réplica 1 (g).

R_2 = peso del precipitado de la réplica 2 (g).

Proteína = contenido de proteína total (g).

Ceniza = contenido de ceniza total (g)

6.6.5 Carbohidratos

Los carbohidratos se determinaron por diferencia de la suma del contenido de proteína, extracto etéreo y cenizas con 100.

6.7 Cuantificación de almidón resistente

Esta cuantificación se realizó de acuerdo a la técnica establecida por Saura-Calixto *et al.* (1993), para la cual se pesaron 0.1 g de fibra insoluble obtenida de la determinación de fibra insoluble.

Posteriormente se adicionó 6 mL de hidróxido de potasio (KOH) 2 M y se agitó por 30 min a temperatura ambiente. Después se añadió 3 mL de acetato de sodio 0.4 M y se ajustó el pH a 4.75 con HCl 2 N. Se adicionaron 60 μ L de la enzima amiloglucosidasa, y se incubó a 60 °C durante 30 min con agitación continua. Posteriormente, se dejaron enfriar y se centrifugaron durante 15 min a 3000 x g. Se colectó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en 10 mL de agua destilada. Se centrifugó 15 min a 3000 x g, se colectó el sobrenadante y ambos sobrenadantes se mezclaron y se aforaron a 50 mL con agua destilada. Se cuantificó el contenido de glucosa con un kit de Glucosa (GOD-PAP) de Randox. El almidón resistente se calculó utilizando una curva estándar de glucosa (0 - 0.98 mg/mL) y la concentración de almidón se expresó como el porcentaje de glucosa (mg) x 0.9 utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Almidón Resistente} = [\text{Glucosa (mg/mL)} * V * 0.9 * 100] / P$$

Donde:

V = volumen de aforado

P = peso de la muestra

6.8 Cuantificación de hierro y zinc

La cuantificación de hierro y zinc se realizó por el método húmedo. En este método la muestra se sometió a una digestión con ácido nítrico (HNO_3) y ácido perclórico (HClO_4). La muestra de frijol se llevó a digestión en ácido perclórico/nítrico (1/5 v/v) a 60 °C durante 12 h, de acuerdo con lo propuesto por Dalfollo *et al.* (2012). El blanco se preparó de la misma manera que las muestras. Las muestras y el blanco se filtraron y el filtrado se analizó en un espectrofotómetro de absorción atómica. La lectura para la cuantificación de hierro se hizo a 238.2 nm y 213.8 nm para la cuantificación de zinc.

Se disolvió una solución estándar de 1000 mg/L de hierro y de zinc en 0.5% de HNO_3 para usarse como la solución madre. El rango de calibración final fue de 0.05 a 5 mg/L para hierro y zinc.

Estrategia de trabajo 3: Determinar la digestibilidad de las proteínas de frijol en las muestras de frijol cocido.

6.10 Digestibilidad proteica

La digestibilidad proteica se realizó *in vitro* de acuerdo al método descrito por Hsu *et al.* (1987) con algunas modificaciones. Una alícuota de 1 mL de una mezcla enzimática [1.6 mg de tripsina (tipo IX), 3.1 mg de quimotripsina (tipo II) y 1.3 mg de peptidasa (grado III)] se agregó a 10 mL de la muestra en solución acuosa con 6.25 mg de proteína total. La solución se incubó a 37° C con una agitación rápida durante 10 min y posteriormente se midió el pH final.

El porcentaje de digestibilidad *in vitro* se calculó usando la siguiente fórmula:

$$Y = 210.46 - 18.10X$$

Donde:

Y = porcentaje de digestibilidad

X = pH final (después de 10 min de incubación)

Estrategia de trabajo 4: Cuantificar oligosacáridos, fenoles, taninos, antocianinas y ácidos fenólicos en las muestras de frijol cocido.

6.11 Determinación de oligosacáridos

6.11.1 Extracción de oligosacáridos

Para la extracción de oligosacáridos se siguió la metodología descrita por Díaz *et al.* (2006), con algunas modificaciones. Se pesaron 500 mg de muestra (harina de frijol cocido), se adicionaron 10 mL de agua, posteriormente la muestra se colocó en baño maría a 80° C durante una hora con agitación cada 5 min. En seguida, la muestra se hizo llegar a temperatura ambiente y el sobrenadante se inyectó en HPLC para su identificación y cuantificación.

6.11.2 Identificación y cuantificación de oligosacáridos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se empleó el método descrito por Muzquiz *et al.* (1999). Se pesaron 500 mg de muestra y se mezclaron con 5 mL de etanol al 80%, para posteriormente agitarse por 1 min a temperatura ambiente. Después se centrifugó por 5 min a 5000 x g, se decantó y el procedimiento de extracción y centrifugación se repitió dos veces en la misma muestra colectando el sobrenadante. Todos los sobrenadantes se secaron a 50-55 °C por 15-20 h en una estufa. La muestra se disolvió en 5 mL de agua desionizada. El análisis por HPLC de oligosacáridos se efectuó usando una columna para carbohidratos marca

Zorbax de 250 mm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, y 5 µm de tamaño de partícula. Se usó una precolumna Zorbax NH₂ de 4.6 mm de longitud y 12.5 mm de diámetro interno, y 5 µm de tamaño de partícula, se empleó un detector de índice de refracción G1362A. La identificación de oligosacáridos se realizó mediante comparación con el tiempo de retención y espectros de absorción de estándares de oligosacáridos comerciales y su cuantificación se realizó con curvas de calibración de los mismos.

6.12 Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos

6.12.1 Extracción de compuestos fenólicos

Se realizó una extracción de los compuestos fenolicos mediante el solvente de extracción propuestos por Xu *et al.* (2007), a 1 g de harina de frijol liofilizada se le adicionaron 10 mL de acetona acidificada al 70 % con 0.5 % de ácido acético [(acetona/agua/ácido acético (70:29.5:0.5 v/v/v)], protegiendo de la luz y agitando durante 24 h, después se centrifugó a 5000 x g durante 10 min a temperatura ambiente, para obtener el sobrenadante.

6.12.2 Cuantificación de fenoles totales

Se empleó el método de Folin Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999). En un tubo de ensayo, se colocaron 40 µL del extracto obtenido de la muestra, posteriormente se le adicionó agua destilada hasta completar un volumen de 500 µL, se agitó el tubo y se le añadió 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1N y se agitó. Se dejó reposando por 5 min y se añadió 1.25 mL de carbonato de sodio al 20 % a cada tubo. La lectura de la absorbancia para cada muestra se hizo a 765 nm. La concentración se calculó utilizando un curva estándar equivalente de ácido gálico (0–0.032 mg/mL) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico/g de muestra seca.

6.12.3 Cuantificación de taninos condensados

Para la cuantificación de taninos condensados se tomaron muestras del extracto acetónico antes mencionado. Se cuantificaron los taninos condensados de acuerdo al ensayo de la vainillina de Desphande *et al.* (1985).

A 100 μL del sobrenadante obtenido del extracto de frijol se agregaron 500 μL de una solución (1:1) recién preparada de vainillina al 1% en metanol y HCl 8%. Posteriormente, se preparó un blanco al cual se le se le adicionaron 100 μL de metanol y 500 μL de HCl al 4%. Para cuantificar los taninos condensados se midió la absorbancia a 492 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó una curva estándar de (+) catequina (0-0.8 mg/ml). La concentración final se expresó como mg equivalentes de (+) catequina/ g de muestra seca.

6.12.4 Cuantificación de flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides totales se realizó la técnica descrita por Liu *et al* (2002), esta técnica se basa en la capacidad del AlCl_3 para formar quelatos con flavonoides; sin embargo, algunos de estos quelatos son inestables a pH ácidos, por lo cual la reacción se lleva a cabo en un medio básico. A 100 μL extracto de frijol se agregaron 1250 μL de agua y 75 μL de una solución de NaNO_2 5 %, los tubos se agitaron durante 6 min y posteriormente se adicionó 150 μL de AlCO_3 al 10 %, se agitó nuevamente durante 5 min y se agregó a la reacción 500 μL de NaOH 1M y 525 μL de agua, se dejó incubando durante 30 min a temperatura ambiente. Para la cuantificación de flavonoides totales se tomó lectura de la absorbancia a 510 nm en el espectrofotómetro. La concentración final se determinó utilizando una curva estándar de (+) catequina (0–0.074 mg/mL) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de (+) catequina/g de muestra seca de frijol.

6.12.5 Cuantificación de antocianinas

Previo a la cuantificación de antocianinas, se realizó la extracción de estos compuestos. A 0.5 g de harina se adicionaron 4 mL de etanol acidificado (85 mL de etanol al 95% + 15 mL de HCl 1.0 N), se protegió de la luz y posteriormente se agitó durante 2 min, transcurrido este tiempo, se ajustó el pH a 1.0 con HCl concentrado, se agitó durante 30 min protegiendo de la luz y finalmente se centrifugó 10 000 x g durante 20 min a temperatura ambiente para obtener el sobrenadante.

La determinación de antocianinas totales se realizó siguiendo el método de Abdel-Aal *et al.* (1999) con modificaciones de Rivera *et al.* (1999). El

sobrenadante del extracto de antocianinas de frijol se llevó a un volumen de 10 mL en un matraz aforado usando etanol acidificado. Posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 535 nm. El valor de la absorbancia obtenido se sustituyó en la siguiente fórmula:

$$C = (A/\epsilon) * (V/1000) * PM * (1/g \text{ de muestra} * 10^6)$$

Donde:

C = concentración de antocianinas totales (mg/kg)

A = absorbancia a 535 nm

ϵ = coeficiente de absorción molar de cianidina 3-glucósido ($25965 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)

V = volumen total del extracto de antocianinas (mL)

PM = peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449 g/mol)

Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/kg de muestra.

6.13 Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se empleó el método descrito por Ramamurthy *et al.* (1992). Se pesaron 100 mg de muestra liofilizada y molida, los cuales se colocaron en un tubo Falcon al que se le adicionó 10 mL de metanol al 30%. Se agitó y se recuperó el sobrenadante el cual se filtró a través de una membrana de 0.45 μm , el filtrado se colocó en un vial y se inyectó inmediatamente al HPLC. El análisis de HPLC de los compuestos fenólicos se realizó con una separación en fase reversa utilizando una columna Zorbax (ODS) – C18 (5 μm tamaño de partícula, 15 cm x 4.6 mm i.d.), para la fase móvil el solvente A fue ácido acético/agua (2:98 v/v) y el solvente B fue ácido acético/acetonitrilo/agua (2:30:68 v/v). El gradiente programado fue desde 10 a 100 % B en A con flujo de 1.5 mL/min. La detección se realizó a 260, 280 y 320 nm.

6.14. Evaluación de capacidad antioxidante *in vitro*

6.14.1 Evaluación del efecto antioxidante sobre la oxidación de lipoproteína de baja densidad (LDL)

El método utilizado para la evaluación del efecto antioxidante sobre la oxidación de la LDL fue descrito por Loy *et al.* (2002). Se utilizó suero de humanos sanos y se ajustó la densidad a un valor ≤ 1.006 g/mL, usando agua destilada para incrementar o KBr para bajar la densidad. Posteriormente, se ultracentrifugó el suero a $32000 \times g$ durante 18 h a 10°C , con el fin de precipitar y obtener la fracción de LDL. En el precipitado es donde se encuentra la fracción a analizar. Una vez que se recuperó la fracción de LDL, se realizaron curvas estándar de catequina y con las muestras del extracto de acetona acidificada de frijol. En tubos Falcon de 15 mL con tapa y cubiertos con aluminio, se colocaron 200 μL de LDL y 100 μL de CuSO_4 (5 mM), se añadió muestra del extracto de frijol de los diferentes tratamientos con el fin de evaluar la concentración inhibitoria media (IC_{50}), en cada tubo se completará el volumen a 1 mL utilizando solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.4. Los tubos se agitaron vigorosamente y se incubaron durante 3 h a 37°C . Después de la incubación, se agregó a cada tubo 1 mL de solución ácido tricloroacético (15%) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico.

Los tubos se calentaron a baño María en ebullición por 20 min, posteriormente los se introdujeron en hielo para interrumpir la reacción. Se agregó a cada tubo 2 mL de *n*-butanol y se centrifugaron a $3500 \times g$ durante 10 min. Los compuestos (TBARS) se midieron a una absorbancia de 532 nm. Para la determinación del porcentaje de inhibición de acuerdo a cada concentración de la muestra se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = [(A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{blanco}}] * 100$$

Donde:

A = absorbancia a 532 nm

6.14.2 Evaluación de la capacidad de inhibición del radical óxido nítrico

Para establecer la capacidad de los extractos para capturar el óxido nítrico (NO), se aplicó la metodología seguida por Giraldo *et al.* (2003), con algunas modificaciones. Se prepararon 16 tubos con volúmenes diferentes del extracto de frijol con acetona acidificada, a cada tubo se le agregó agua destilada para completar 1 mL, inmediatamente se adicionaron 200 µL de nitroprusiato de sodio (NPS, 0.4 mL, 113 mM), se agitaron, se incubaron a temperatura ambiente durante 150 min. Se agregó el reactivo de Griess: primero 400 µL del reactivo A (ácido sulfanílico al 1% en ácido fosfórico al 5%) y 30 min después se adicionó 400 µL del reactivo B (N-1 naftiletilenediamina al 0.1% en agua destilada); los tubos se dejaron en reposo durante 15 min, y se midió la absorbancia a 546 nm. Las lecturas de absorbancia decrecen con el aumento de la actividad antinitrosativa. La actividad antinitrosativa se estimó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ PION} = [(A_0 - A_M) / A_0] * 100$$

Dónde:

% PION: corresponde al potencial inhibitorio del óxido nítrico

A_0 : es la absorbancia del control

A_M : es la absorbancia de la mezcla reaccionante

6.15 Análisis estadístico

Se realizó el análisis de los efectos de la interacción existente entre los tres tratamientos y la variabilidad debida al uso de diferentes variedades de frijol.

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm el error estándar (EE). La evaluación estadística de los datos se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95 %. Se realizó el análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Dunnett teniendo como control la variedad de frijol Pinto Durango (por ser una variedad con alto contenido de fitoquímicos con potencial benéfico a la salud) cultivado bajo el

sistema de riego (por permitir una condición óptima de humedad en el suelo para el crecimiento de la planta de frijol). La prueba de Tukey se aplicó en el análisis de los solventes de extracción. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico JMP versión 5.0.1.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Estrategia de trabajo 1: Determinar el rendimiento, tamaño de grano y la capacidad de absorción de agua de tres variedades de frijol sometidas a tres condiciones de humedad: riego, sequía severa y sequía constante.

7.1 Número de vainas por planta

En la Figura 6 se muestran los resultados del número de vainas por planta de frijol. Bajo la condición de riego (70% de humedad en suelo), el número de vainas es mayor con 7, 6.9 y 7.2 para Pinto Durango, Rarámuri y Saltillo respectivamente, sin embargo, al suspender el riego en la etapa de floración (Sequía Severa) el número de vainas disminuye; la tendencia es similar para todas las variedades, la variedad Pinto Durango tuvo una disminución hasta de un 57 %.

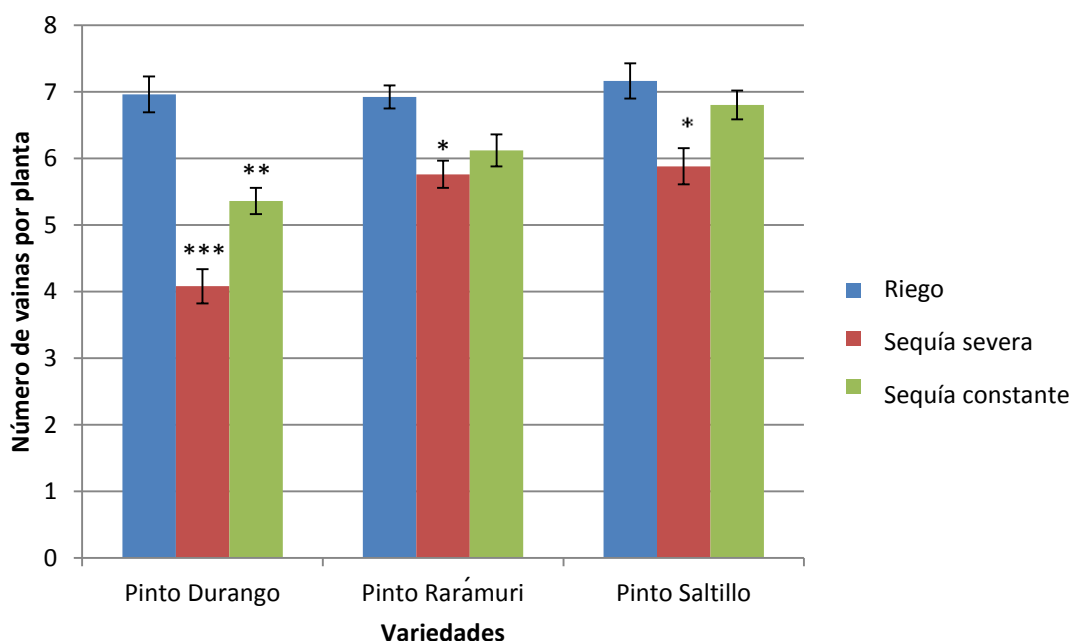


Figura 6. Número de vainas por planta en tres variedades de frijol cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad.

Los datos se expresan como la media \pm EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Existen reportes que muestran una disminución hasta del 60 % en el número de vainas de frijol blanco en condiciones de sequía durante la etapa reproductiva, comparando con las plantas cultivadas bajo irrigación (Szilagyi, 2003), esto es similar al resultado obtenido para Pinto Durango.

Por otro lado, se han reportado que la variedad Pinto Saltillo es resistente a la sequía; solo disminuyó en un 16 % en sequía severa. Pinto Rarámuri es una variedad de reciente liberación por el INIFAP; por lo tanto, no existen reportes de su comportamiento ante un déficit de humedad. En este experimento, la disminución que tuvo en sequía severa fue sólo de un 15 %.

Efectos que son de suma importancia estimar son los que se generan cuando se tiene más de un factor; con estos efectos se puede determinar posibles interacciones. En este trabajo se tiene como un factor a las variedades y otro las condiciones de humedad, el efecto sobre el número de vainas entre las variedades depende de los niveles del tratamiento, El efecto de los tratamientos fue más importante para Pinto Durango ya que bajo sequía severa se observa que el decremento es más drástico que para Pinto Rarámuri y Saltillo (Anexo 7).

7.2 Número de granos por vaina

En cuanto al número de granos por vaina, ninguna de las variedades y tratamientos fue diferentes al control (Pinto Durango, riego). Sin embargo, las variedades en las que se desarrollaron mayor número de granos por vaina en condiciones de riego fueron Durango y Rarámuri con un valor promedio de 4.0 y 3.9 respectivamente.

En la sequía constante los valores obtenidos fueron similares a la condición de riego. La sequía severa es la condición que permitió el desarrollo de menor número de granos por vaina (3.6 granos para Pinto Durango y Pinto Saltillo, seguido de 3.5 para Pinto Rarámuri).

Manjeru *et al.* (2007), publicaron resultados cercanos a los obtenidos en este estudio en términos del número de granos por vaina, ya que no observaron una interacción significativa entre variedades de frijol común y el estrés hídrico causado por sequía, presentando un promedio de granos por

vaina de 4.5–5.4 en tres diferentes variedades de frijol común cultivados bajo condiciones controladas de humedad del suelo.

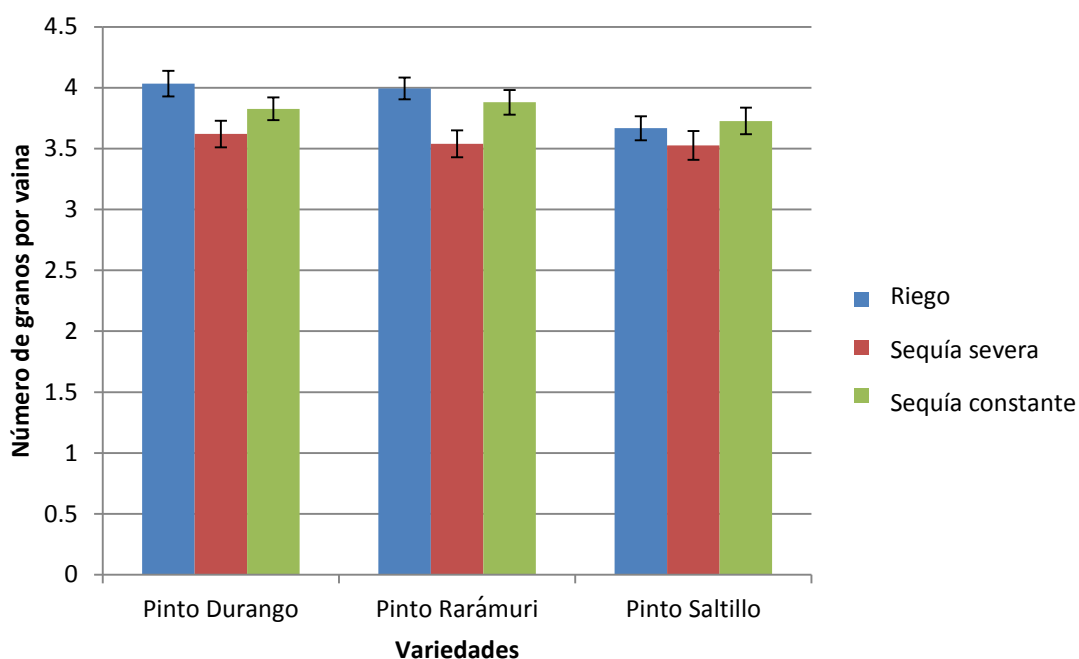


Figura 7. Número de granos por vaina en tres variedades de frijol cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad.

Los datos se expresan como la media \pm EE.

7.3 Estimación de rendimiento por m²

En México, se ha reportado que la sequía intermitente afecta el rendimiento del frijol cultivado bajo el sistema de temporal; por esta razón, se ha buscado el mejoramiento de frijol común con el objetivo de obtener variedades con mayor resistencia a la sequía, tal es el caso de las variedades Pinto Saltillo y Pinto Rarámuri. Estas variedades tuvieron una disminución en el rendimiento respecto al control del 12 % y 16.5 %, respectivamente. Sin embargo, el rendimiento de la variedad Pinto Durango disminuyó hasta un 43.9 % en condiciones de sequía severa comparando este resultado con lo obtenido en riego. (Figura 8).

Un dato importante referente al rendimiento es el aumento que se observó para la sequía constante; ya que esta condición permitió la mayor

producción teniendo un incremento respecto al control de 6.0 % para Pinto Durango, 33.4 % para Pinto Rarámuri y 26.7 % para Pinto Saltillo. Además, en la gráfica del perfil de interacción se observa que las variedades Pinto Durango y Pinto Rarámuri cultivadas bajo riego, tienen rendimientos similares; sin embargo, al cultivar estas variedades bajo sequía constante, Pinto Rarámuri incrementa en rendimiento. Esto demuestra que un estrés moderado potencializa el incremento en el rendimiento al mismo nivel que la variedad Pinto Saltillo (Anexo 8).

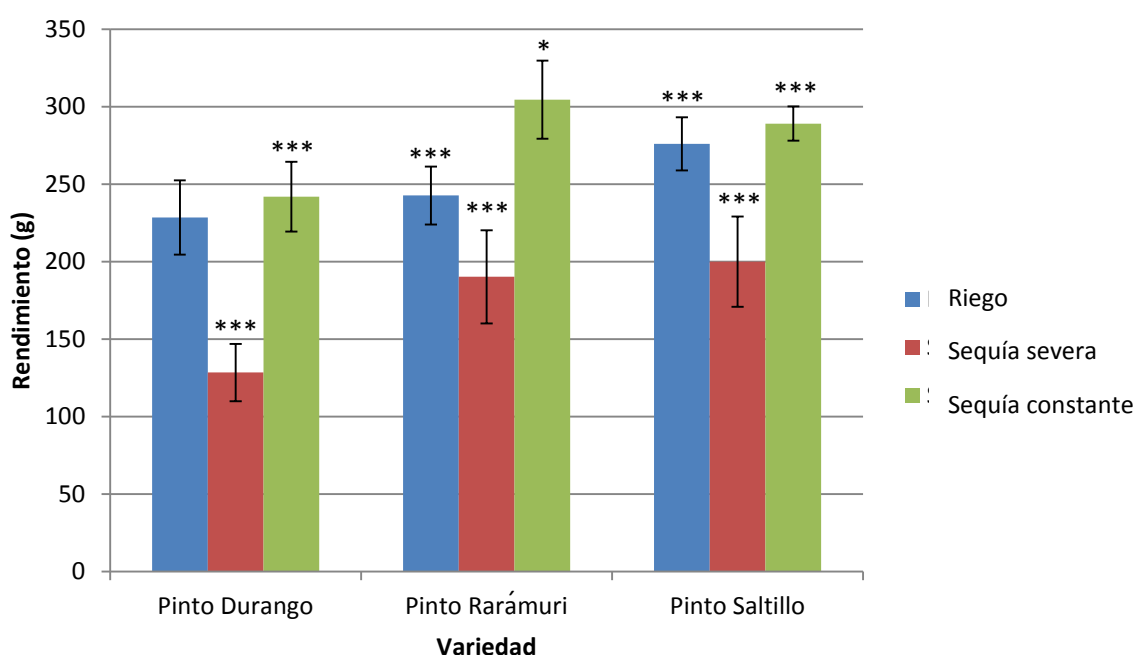


Figura 8. Rendimiento estimado por m² en tres variedades de frijol cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad.

Los datos se expresan como la media ± EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Los resultados están estimados por m², sin embargo, al extrapolar los porcentajes de incremento en mayores superficies de siembra, el incremento sería importante, llevando así a considerar la optimización del riego para el cultivo de frijol, ya que en referencia a los resultados obtenidos, al estresar a la planta de manera moderada y durante las 2 fases de desarrollo, se obtiene un incremento en el rendimiento de esta leguminosa.

7.4 Tamaño de grano de frijol común

El tamaño de grano es un factor importante que determina la calidad del frijol común. Se ha reportado que la reducción en el tamaño está relacionada con la disminución del rendimiento bajo condiciones de sequía durante la etapa reproductiva (Pérez *et al.*, 1999). Tal es el caso de la sequía severa ya que la sequía se presentó al llegar a la fase reproductiva. En la Figura 9 se observa que la disminución del tamaño de grano, respecto al control fue de 18 % para la variedad Pinto Durango, seguido de 15 % para Pinto Rarámuri y 13 % para Pinto Saltillo cultivadas bajo sequía severa.

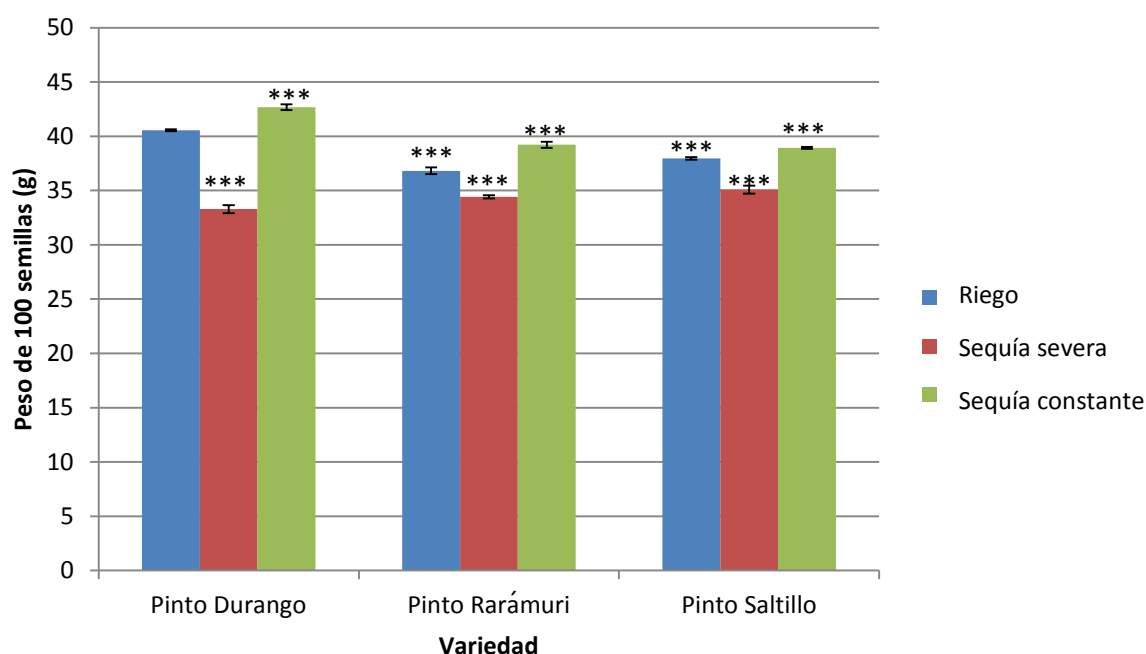


Figura 9. Tamaño de grano de tres variedades de frijol cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad.

Los datos se expresan como la media \pm EE. *** $p \leq 0.001$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

En el Anexo 9 se observa un efecto significativo entre la cantidad de humedad del suelo y el tamaño de grano de Pinto Durango, ya que esta variedad tiene el mayor tamaño en riego; no obstante, el tamaño disminuye al restringir la cantidad de agua durante su desarrollo. Por otro lado, Pinto Saltillo y Rarámuri presentaron un efecto de interacción, ya que bajo riego y sequía

constante, Pinto Saltillo tiene mayor tamaño de grano, sin embargo, bajo la sequía constante esta tuvo menor tamaño que Pinto Rarámuri.

Sin embargo, Pérez *et al.* (1999) mencionaron que la restricción de humedad en la fase reproductiva disminuye este factor en mayor proporción cuando se presenta durante la fase vegetativa. Es por esto que el tamaño de grano cultivado bajo la condición de sequía constante no se vio afectado en similar proporción; por el contrario, el tamaño de grano para todas las variedades cultivadas bajo esta condición aumentó, obteniendo un incremento de 6.3% para Pinto Saltillo, 5.1 % para Pinto Durango y 3.1 % para Pinto Rarámuri (Figura 10).

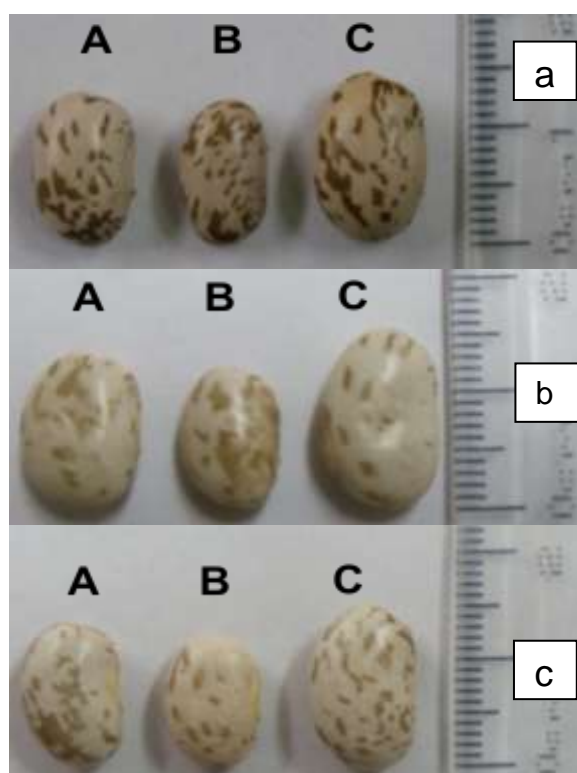


Figura 10. Imágenes representativas del tamaño de grano de tres variedades de frijol cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad. a) Pinto Durango; b) Pinto Rarámuri; c) Pinto Saltillo. A= Riego, B= Sequía Severa, C= Sequía Constante.

Este resultado es interesante, y lo que se sugiere a partir de estos datos es que el aumento en el rendimiento de frijol cultivado bajo la condición de sequía constante pudiera deberse al incremento en el tamaño de grano cultivado bajo un estrés causado por déficit de humedad de manera moderada; sin embargo, esto es sólo una hipótesis, lo que permite la pauta para posteriores estudios.

7.5 Capacidad de absorción de agua

Las tres variedades de frijol utilizadas en este estudio mejoraron su capacidad para absorber agua cuando el frijol se cosechó bajo sequía constante y sequía severa, esta propiedad se incrementó ligeramente respecto a la variedad Pinto Durango cultivada bajo riego (Cuadro 2).

Cuadro 2. Capacidad de absorción de agua en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad

Variedad	Tratamiento	Capacidad de absorción de agua (% v/v)
Pinto Durango	Riego	43.5 ± 0.3
	Sequía Severa	45.0 ± 0.6
	Sequía Constante	46.1 ± 0.1 ^{**}
Pinto Rarámuri	Riego	46.1 ± 0.9 ^{**}
	Sequía Severa	47.6 ± 0.8 ^{***}
	Sequía Constante	48.0 ± 0.8 ^{***}
Pinto Saltillo	Riego	44.8 ± 0.5
	Sequía Severa	46.9 ± 0.8 ^{***}
	Sequía Constante	47.8 ± 0.8 ^{***}

Los datos se expresan como la media ± DE. ^{***} $p \leq 0.001$, ^{**} $p \leq 0.01$ y ^{*} $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

En el anexo 10, se puede observar que Pinto Rarámuri tuvo mayor capacidad de absorción de agua al ser cosechado en riego y sequía constante. Sin embargo, ante la condición de sequía severa, Pinto Saltillo es superior en esta variable respuesta, esto indica que esta variedad tiene mayor capacidad

de absorción de agua cuando se obtiene después de haber recibido un estrés más severo en su etapa de desarrollo.

Entre los componentes que se relacionan con la capacidad de absorción de agua en frijol común, Reyes *et al.* (1993) mencionan como ejemplos: cambios en macrocomponentes como el contenido de proteínas, carbohidratos como el almidón y algunos componentes de la fibra (celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina) y lípidos, así como cambios en los microcomponentes como los compuestos fenólicos y ácido fítico.

Por otro lado, Hsu *et al.* (1983) estudiaron los factores morfológicos que afectan la absorción de agua, encontrando que tienen estrecha relación con este fenómeno, es decir, los resultados fueron diferentes según la variedad de frijol ya que lo relacionaron con el tamaño y densidad de las semillas, encontrando que las variedades con los valores más altos de estas variables presentaron también la mayor capacidad de absorción de agua. Por otro lado, Stanley *et al.* (1990), relacionan el tamaño de grano adicionalmente con un mayor tamaño del hilio. Estos reportes nos permiten relacionar el incremento en tamaño de grano y la capacidad de absorción de agua en las tres variedades cultivadas bajo la sequía constante.

Estrategia de trabajo 2: Evaluar el efecto de la sequía sobre el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra, almidón, hierro y zinc de frijol cocido cultivado en diferentes condiciones de humedad.

7.6 Análisis proximal

En el Cuadro 3 se muestra la composición proximal de las tres variedades de frijol cocido cultivadas bajo diferentes condiciones de humedad. De manera general, se observa un mayor contenido de proteínas en las tres variedades sometidas a una sequía constante. El porcentaje de incremento respecto a lo que se observó en Pinto Durango cultivada bajo riego fue de 8.6 % para Pinto Saltillo, seguido por Pinto Rarámuri con un aumento de 5.3 %. El incremento en el contenido de proteínas de estas variedades está dentro del intervalo reportado por González *et al.* (2003), quienes obtuvieron un aumento de 1.5 – 10.2 % en el contenido de proteínas de 6 genotipos diferentes de frijol

común y tépari (*Phaseolus acutifolius*) cultivado bajo estrés hídrico causado por sequía.

Pinto Durango tuvo un incremento ligeramente superior al reportado en proteína, con 11.9 %. No obstante, cuando la sequía afecta a Pinto Durango durante la fase reproductiva (sequía severa), disminuye el contenido de proteínas en mayor proporción que el resto de las variedades (Anexo 11).

Se ha reportado que existe una relación entre el contenido de lípidos y la adaptación de la planta al estrés ambiental. En este sentido, el contenido de lípidos fue mayor en frijol cultivado bajo condiciones de sequía constante para todas las variedades, con incrementos de 2.5 %, 3.1 % y 1.6 % para Pinto Durango, Rarámuri y Saltillo, respectivamente; sin embargo, no se observó diferencia significativa entre el control y Pinto Saltillo en riego (Cuadro 3). Respecto al efecto del riego y la sequía severa en el contenido de lípidos, en el Anexo 12 se observa que Pinto Rarámuri tiene mayor capacidad de síntesis bajo el estrés hídrico causado por sequía severa a diferencia del resto de las variedades, cuya concentración de lípidos fue mayor bajo el efecto del riego.

En algunos estudios realizados en frijol tipo Caupí (Cowpea) se reportó que existe un mayor contenido de lípidos en el grano cuando la planta se estresa por un déficit de humedad en el suelo. Esto es por un incremento en la síntesis de galactosilglicerolípidos los cuales son los principales componentes de la membrana de los cloroplastos y tilacoides, estos lípidos son importantes en la tolerancia a la falta de agua (Torres Franklin *et al.*, 2007; Yordanov *et al.*, 2003). Estos son: monogalactosil-diacilglicerol (MGDG), formados en la membrana interna y externa de los cloroplastos; y digalactosil-diacilglicerol (DGDG), sintetizados solo en la externa (Dormann *et al.*, 2002).

En cuanto al contenido de carbohidratos, Pinto Durango y Pinto Rarámuri que fueron cultivadas bajo sequía constante tuvieron menor síntesis de carbohidratos respecto a Pinto Durango cultivado bajo riego (Cuadro 3). Para las variedades Pinto Durango y Rarámuri no se observó diferencia significativa entre los tratamientos de riego y sequía severa. Sin embargo, la sequía severa una mayor concentración de carbohidratos en la fase de desarrollo (Anexo 13).

Para explicar lo anterior, Zlatev *et al.* (2004) mencionan que al existir una baja disponibilidad de agua en el suelo, las plantas limitan la transpiración cerrando los estomas y reduciendo la captura de CO₂ provocando pérdidas en el abasto de moléculas orgánicas principalmente carbohidratos como la glucosa.

Por otro lado, no se observó diferencia significativa en el contenido de cenizas entre las tres variedades cultivadas bajo las diferentes condiciones de humedad del suelo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis proximal de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad.

Tratamiento	Variedad	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos (%)
Pinto Durango	Riego	18.5 ± 0.1	1.6 ± 0.4	4.2 ± 0.5	75.6 ± 0.4
	Sequía severa	19.1 ± 0.1 ^{***}	1.5 ± 0.3	4.2 ± 0.1	75.3 ± 0.8
	Sequía constante	20.7 ± 0.1 ^{***}	3.7 ± 0.4 ^{**}	3.9 ± 0.6	71.7 ± 0.6 ^{***}
Pinto Rarámuri	Riego	18.7 ± 0.2	1.2 ± 0.2	4.09 ± 0.4	75.9 ± 0.3
	Sequía severa	19.6 ± 0.1 ^{***}	1.3 ± 0.1	3.6 ± 0.1	75.3 ± 0.4
	Sequía constante	19.7 ± 0.1 ^{***}	3.1 ± 0.3 ^{**}	3.6 ± 0.6	73.4 ± 0.6 [*]
Pinto Saltillo	Riego	18.6 ± 0.1	1.1 ± 0.4	4.1 ± 0.2	76.0 ± 0.4
	Sequía severa	19.3 ± 0.1 ^{***}	0.7 ± 0.1 [*]	3.5 ± 0.1	76.2 ± 0.6
	Sequía constante	20.2 ± 0.1 ^{***}	1.6 ± 0.4	3.7 ± 0.4	74.3 ± 0.1

Los datos se expresan como la media ± DE. ^{***} $p \leq 0.001$, ^{**} $p \leq 0.01$ y ^{*} $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

7.7 Contenido de hierro y zinc

Los nutrientes minerales juegan un rol importante en las funciones bioquímicas y fisiológicas de los sistemas biológicos. El frijol común es fuente importante de hierro y zinc, sin embargo, el contenido de estos minerales puede verse afectado por las condiciones del cultivo (Beebe *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2012).

En el Cuadro 4, se observa que todas las variedades mostraron mayor concentración de hierro cuando el cultivo se sometió a sequía severa en la etapa reproductiva; mientras que el contenido de Zinc fue mayor en el grano cosechado en el tratamiento de sequía constante.

Cuadro 4. Contenido de hierro y zinc en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad.

Variedad	Tratamiento	Contenido de hierro (ppm)	Contenido de zinc (ppm)
Pinto Durango	Riego	45.30 ± 3.7	20.87 ± 1.8
	Sequía Severa	80.60 ± 4.7 ^{***}	28.80 ± 3.9 ^{***}
	Sequía Constante	70.93 ± 1.1 ^{***}	29.17 ± 2.3 ^{***}
Pinto Rarámuri	Riego	46.13 ± 1.0	21.47 ± 2.0
	Sequía Severa	74.27 ± 3.8 ^{***}	22.27 ± 2.1
	Sequía Constante	60.60 ± 1.6 ^{**}	25.53 ± 1.2
Pinto Saltillo	Riego	48.60 ± 3.7	20.50 ± 0.6
	Sequía Severa	67.07 ± 2.4 ^{***}	22.43 ± 2.4
	Sequía Constante	58.47 ± 1.8 ^{**}	24.70 ± 1.8 ^{**}

Los datos se expresan como la media ± DE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Sardans *et al.* (2013) en un estudio de seis años observaron en un ambiente mediterráneo con dos especies arbustivas un incremento de P en hojas de plantas sometidas a estrés. Indicaron que el incremento estuvo relacionado con la redistribución de ese elemento entre los distintos órganos de

la planta acumulándose preferencialmente en las hojas. En el caso de esta investigación, la acumulación de hierro en el grano de las plantas sometidas a sequía severa probablemente se debió a una distribución del mineral hacia los granos en desarrollo. Se obtuvo un incremento de 78 % para Pinto Durango, 64 % para Pinto Rarámuri y 49 % para Pinto Saltillo cultivados bajo sequía severa. En el Anexo 14 se puede observar que Pinto Saltillo es la variedad con mayor capacidad para absorber el hierro en condiciones de riego, no obstante, a medida que disminuye la humedad del suelo, ésta presenta el menor contenido de este mineral en comparación con Pinto Durango y Rarámuri.

En el caso del contenido de zinc, el porcentaje de incremento fue de 39 % para la variedad Pinto Durango, 22 % para Rarámuri y 18 % para Saltillo, cultivadas bajo sequía constante. Para esta variable, se observa mayor variabilidad entre las diferentes condiciones de humedad para la variedad Pinto Durango (Anexo15). Disante *et al.* (2011) demostraron que la acumulación de minerales, como el zinc puede conferir a la planta cierta capacidad de adaptación ante un ambiente de estrés hídrico, ya que el zinc induce estrategias de conservación del agua en las plantas. Estos investigadores proponen una reducción neta de la fotosíntesis y el cierre de estomas, ya que el zinc controla el movimiento estomal alterando la proporción entre el K^+ y otros iones inhibiendo los canales de agua y reduciendo la entrada de K^+ , lo que favorece el cierre de estomas y, por tanto, un decremento importante en el uso de agua.

7.8 Contenido de fibra y almidón

En el Cuadro 6 se presenta el contenido de fibra dietaria total (soluble e insoluble) y el contenido de almidón resistente. El contenido de fibra total respecto al control es significativamente diferente en la variedad Pinto Saltillo cosechado bajo los tres tratamientos y Pinto Rarámuri en riego, sin embargo, la tendencia en la respuesta a los diferentes tratamientos es similar en las tres variedades, siendo Pinto Saltillo la que presenta mayor concentración de fibra total seguido de Pinto Durango; desde el punto de vista de los tratamientos, la

sequía constante permitió la mayor concentración de este componente en las tres variedades (Anexo 16).

Por otro lado, la fibra insoluble incrementó bajo condiciones de sequía constante para todas las variedades; para Pinto Rarámuri, el incremento no fue estadísticamente significativo; contrariamente, la sequía severa produjo una disminución de esta fibra en las tres variedades. La fibra soluble presentó una tendencia a disminuir en condición de sequía constante y a incrementar en sequía severa (Cuadro 6).

En los Anexos 17 y 18 se puede observar que Pinto Durango tiene menor contenido de fibra insoluble bajo la condición de sequía severa, por el contrario, el contenido de fibra soluble es ligeramente superior al resto de las variedades.

La fibra dietaria total es uno de los principales componentes del frijol y se han reportado concentraciones de fibra para diferentes variedades de 14 a 27 %, para frijol cocido la fracción de fibra insoluble oscila entre 10–13 % y de fibra soluble de 3–7 % (Kutos *et al.*, 2003; Paredes *et al.*, 2006).

Uno de los componentes principales de la fracción de carbohidratos en el frijol corresponde al almidón resistente. En las muestras analizadas se encontró que todas las variedades sometidas a sequía constante incrementan con respecto al control, con 14.2 % para Pinto Durango, 18.4 % para Pinto Rarámuri y 31.6 % para Pinto Saltillo.

Respecto a la sequía severa, esta condición disminuyó los niveles de almidón resistente siendo más afectada la variedad Pinto Rarámuri; la variedad Pinto Durango obtenidas bajo riego tiene la menor concentración de almidón resistente comparando con el resto de las variedades; sin embargo, cuando se cultivó bajo sequía severa obtuvo la mayor concentración de este componente (Anexo 19).

Cuadro 6. Contenido de fibra total, soluble e insoluble y almidón resistente en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad.

Tratamiento	Variedad	Fibra total (%)	Fibra insoluble (%)	Fibra soluble (%)	Almidón resistente (%)
	Riego	23.40 ± 0.2	14.75 ± 0.8	8.65 ± 0.9	14.47 ± 0.2
Pinto Durango	Sequía severa	23.92 ± 0.4	9.97 ± 0.7 ^{***}	13.95 ± 0.9 ^{**}	10.63 ± 0.2 ^{***}
	Sequía constante	25.42 ± 0.1	20.92 ± 0.4 ^{***}	4.50 ± 0.2 [*]	16.53 ± 0.9 ^{**}
	Riego	20.22 ± 0.9 [*]	12.62 ± 0.2	7.60 ± 0.7	11.36 ± 0.2 ^{***}
Pinto Rarámuri	Sequía severa	21.87 ± 0.7	10.92 ± 0.9 ^{**}	10.95 ± 0.9	8.10 ± 0.1 ^{***}
	Sequía constante	23.77 ± 0.2	15.97 ± 0.1	7.80 ± 0.1	17.13 ± 0.4 ^{***}
	Riego	26.14 ± 0.9 [*]	15.24 ± 0.9	10.90 ± 0.2	15.12 ± 0.1
Pinto Saltillo	Sequía severa	26.04 ± 0.1 [*]	12.24 ± 0.2 [*]	13.80 ± 0.2 ^{**}	9.62 ± 0.2 ^{***}
	Sequía constante	27.87 ± 0.9 ^{***}	17.72 ± 0.3 [*]	10.15 ± 0.6	19.05 ± 0.5 ^{***}

Los datos se expresan como la media ± EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Estrategia de trabajo 3: Determinar la digestibilidad de las proteínas de frijol en las muestras de frijol cocido.

7.7 Digestibilidad proteica *in vitro*

Yokota *et al.* (2002) sugirieron que la medición de la digestibilidad *in vitro* en cultivos de interés, es importante debido a que el contenido de aminoácidos y de proteínas pudiera cambiar bajo condiciones de sequía y ésto a su vez podrá afectar la digestibilidad de proteínas.

En este estudio no hubo un efecto significativo en la digestibilidad proteica *in vitro* (76.8-79.7 %) relacionada con la modificación en el régimen de humedad del suelo (Cuadro 5). Los resultados obtenidos concuerdan con lo obtenido por González *et al.* (2003) quienes reportan valores de digestibilidad de 71.1-76.7 %. Estos resultados sugieren que la proteína de frijol común producida bajo condiciones de estrés causado por sequía tiene una calidad proteica similar a la proteína presente en el grano cultivado bajo riego.

Cuadro 5. Digestibilidad proteica de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad

Variedad	Tratamiento	Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> (%)
Pinto Durango	Riego	76.85 ± 0.2
	Sequía Severa	78.18 ± 0.4
	Sequía Constante	77.25 ± 0.3
Pinto Rarámuri	Riego	77.78 ± 0.7
	Sequía Severa	79.72 ± 0.1
	Sequía Constante	77.64 ± 0.9
Pinto Saltillo	Riego	78.33 ± 0.2
	Sequía Severa	79.43 ± 0.1
	Sequía Constante	78.03 ± 0.9

Los datos se expresan como la media ± EE.

Este resultado es favorable, ya que sin importar las condiciones en las que se cultive la planta de frijol, la semilla destinada a grano para consumo podrá tener la misma calidad. Es decir, en años de precipitación errática (en el caso de productores de temporal), el frijol común se podrá seguir considerando un alimento con elevado contenido de proteínas de calidad para consumo humano.

Estrategia de trabajo 4: Cuantificar oligosacáridos, fenoles, taninos, antocianinas y ácidos fenólicos en las muestras de frijol cocido.

7.8.1 Contenido de oligosacáridos

Pocos son los estudios que existen acerca del efecto de la sequía sobre el contenido de carbohidratos solubles, como los oligosacáridos, en las leguminosas, especialmente el frijol común que se considera como un alimento con importante contenido de estos compuestos.

En este estudio se observa que la sequía moderada incrementó el contenido de oligosacáridos en todas las variedades. Comparando los resultados obtenidos con el control, la variedad Pinto Saltillo tuvo el mayor incremento de rafinosa con un 25 %, seguido de Pinto Durango con 15.3 % y finalmente Pinto Rarámuri con 7.87 %. Para el caso de la estaquiosa se observó un incremento de 71 % para Pinto Durango, 42.3 % para Pinto Saltillo y 27 % para Pinto Rarámuri, todas cultivadas bajo sequía constante. En el contenido de verbascosa se tuvo el menor porcentaje de incremento con 8.3 % para Pinto Durango y Saltillo bajo sequía constante (Cuadro 7).

En el Cuadro 7 se observa que los resultados obtenidos en este estudio sustentan lo reportado por Bernardo *et al.* (2012), quienes encontraron que al someter a la planta de frijol a un estrés hídrico terminal, la planta tiene la capacidad de sintetizar mayor cantidad de oligosacáridos que las plantas control bajo irrigación. El porcentaje de incremento que reportan los autores para frijol cocido de diferentes variedades fue de 17.8 a 132.7 %.

Doubnerová *et al.* (2011) hacen mención de que en diferentes especies de plantas existe la acumulación de compuestos como sacáridos entre los que se puede mencionar la sucrosa, trehalosa y oligosacáridos como respuesta a

una condición de estrés y, de este modo, afectar el balance de agua, ayudando a la planta a evitar y/o tolerar el estrés ya sea por sequía, salinidad ó enfriamiento.

Cuadro 7. Contenido de oligosacáridos en frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad.

Variedad	Tratamiento	Oligosacáridos ($\mu\text{g/g}$)		
		Rafinosa	Estaquiosa	Verbascosa
Pinto Durango	Riego	4.70 \pm 0.1	0.52 \pm 0.1	3.60 \pm 0.1
	Sequia severa	4.76 \pm 0.1	0.23 \pm 0.0 ^{***}	2.22 \pm 0.1 ^{***}
	Sequia constante	5.42 \pm 0.1*	0.89 \pm 0.1 ^{***}	3.90 \pm 0.0 ^{***}
Pinto Rarámuri	Riego	4.74 \pm 0.1	0.54 \pm 0.0	3.90 \pm 0.1 ^{***}
	Sequia severa	4.04 \pm 0.2	0.16 \pm 0.0 ^{***}	2.55 \pm 0.1 ^{***}
	Sequia constante	5.07 \pm 0.4	0.66 \pm 0.1*	3.88 \pm 0.1 ^{**}
Pinto Saltillo	Riego	3.85 \pm 0.2*	0.21 \pm 0.1 ^{***}	1.89 \pm 0.1 ^{***}
	Sequia severa	4.55 \pm 0.1	0.35 \pm 0.1 ^{***}	2.72 \pm 0.1 ^{***}
	Sequia constante	5.88 \pm 0.1 ^{**}	0.74 \pm 0.2*	3.90 \pm 0.1 ^{***}

Los datos se expresan como la media \pm EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

7.9 Contenido de compuestos fenólicos

El análisis de las muestras de frijol Pinto Durango, Rarámuri y Saltillo, obtenidas bajo el sistema de riego, sequía severa y sequía constante, indican que Pinto Durango en riego presentó mayor concentración de fenoles totales (2.4 veces), taninos condensados (4.2 veces), flavonoides (2.6 veces) y antocianinas (1.8 veces), comparando con otras variedades en estudio, (Cuadro 8).

En el Anexo 23 se muestra una interacción para fenoles totales entre Pinto Rarámuri y Saltillo siendo este último el que contiene mayor concentración de fenoles totales en riego, sin embargo, al cultivarlos bajo sequía severa Pinto Rarámuri presentó mayor contenido de estos compuestos; estas variedades tienen el mismo efecto de interacción para taninos condensados y flavonoides (Anexos 24 y 25).

Cuando las plantas de frijol fueron sometidos a sequía severa se observó un aumento de fenoles totales de 6.89 % en Pinto Durango y 58.3 % en Pinto Saltillo comparando con sus respectivas variedades cultivadas bajo riego. En sequía constante se incrementó la concentración hasta en un 37.9 % para Pinto Durango y 83.3 % para Pinto Saltillo. Comparando los valores obtenidos con el control existe diferencia con todas las muestras excepto Pinto Durango cultivado bajo sequía severa. Estos datos son similares a los reportados por otros autores, quienes encontraron 29.9 % más fenoles totales en la variedad Pinto Durango (cocido y liofilizado) cultivado bajo estrés hídrico terminal (Bernardo *et al.* 2012).

Para la concentración de taninos, la sequía constante mejoró los niveles de estos compuestos respecto a la condición de riego, para los flavonoides se observó un efecto menor, contrariamente, las concentraciones de antocianinas se incrementaron de manera importante en sequía severa, Pinto Rarámuri y Saltillo (89 % y 36 %) y en sequía constante Pinto Durango fue mayor en un 44.5 %. Por lo tanto, los compuestos fenólicos incrementaron como respuesta a las condiciones de estrés causadas por un déficit de humedad en el suelo.

Bajo todas las condiciones de humedad, Pinto Durango es superior en la síntesis de fenoles totales, taninos condensados, flavonoides totales y antocianinas totales comparando esta variedad con Pinto Rarámuri y Pinto Saltillo.

La adaptación de las plantas al estrés biótico y abiótico está relacionada con una mayor síntesis de metabolitos secundarios como los polifenoles derivados de las vías metabólicas del Shikimato y fenilpropanoide (Randhir *et al.*, 2004). En el estrés por sequía se considera la duración y frecuencia del déficit de humedad, lo que permite un incremento de la síntesis de fenilalanina que es un precursor de los compuestos fenólicos (Dixon *et al.*, 1995; Horner, 1990).

Cuadro 8. Concentración de compuestos fenólicos de frijol cultivado en diferentes condiciones de humedad.

Tratamiento	Variedad	Fenoles totales mg. eq. de ác. gálico/ g de mtra.	Taninos mg. eq. de (+) catequina/ g de mtra.	Flavonoides mg. eq. de (+) catequina/ g de mtra.	Antocianinas mg. eq. de cianidin- 3-glucósido/ kg mtra.
Pinto Durango	Riego	2.9 ± 0.05	4.7 ± 0.1	1.6 ± 0.1	11.0 ± 0.7
	Sequía severa	3.1 ± 0.08	5.8 ± 0.1	1.7 ± 0.08	15.0 ± 0.3 ^{***}
	Sequía constante	4.0 ± 0.03 ^{***}	6.1 ± 0.1 [*]	1.9 ± 0.03	15.9 ± 0.3 ^{***}
Pinto Rarámuri	Riego	1.7 ± 0.1 ^{***}	1.1 ± 0.3 ^{***}	0.6 ± 0.03 [*]	7.3 ± 0.9 ^{***}
	Sequía severa	1.98 ± 0.1 ^{***}	0.9 ± 0.1 ^{***}	0.9 ± 0.06	13.8 ± 0.5 ^{**}
	Sequía constante	1.91 ± 0.3 ^{**}	2.4 ± 0.3 ^{***}	0.7 ± 0.08 [*]	13.1 ± 0.6 [*]
Pinto Saltillo	Riego	1.2 ± 0.02 ^{**}	1.1 ± 0.03 ^{***}	0.7 ± 0.07 [*]	6.1 ± 0.4 ^{***}
	Sequía severa	1.9 ± 0.08 ^{***}	1.3 ± 0.1 ^{***}	0.6 ± 0.08 [*]	8.3 ± 0.5 ^{***}
	Sequía constante	2.2 ± 0.1 ^{***}	1.4 ± 0.02 ^{***}	0.8 ± 0.1	7.6 ± 0.6 ^{***}

Los datos se expresan como la media ± EE. ^{***} $p \leq 0.001$, ^{**} $p \leq 0.01$ y ^{*} $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

7.10 Compuestos y ácido fenólicos detectados por HPLC

Los ácidos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, protegiendo de la oxidación y ataque de plagas y patógenos. En los granos y cereales los ácidos hidroxicinámicos son los más comunes y están conformados por ácido cumárico, caféico, ferúlico y sinápico (Manach *et al.*, 2003).

En este estudio se observa que bajo condiciones de sequía (severa y constante), todos los ácidos fenólicos identificados en las muestras de frijol aumentaron su concentración (Cuadros 9, 10 y 11). Sin embargo, algunos compuestos como el fueron sintetizados en mayor proporción durante la sequía constante. Por otra parte, el ácido gálico, caféico y la catequina se encontraron en mayor concentración durante la sequía severa.

En el Cuadro 9 se observa que el ácido gálico tuvo un incremento importante con 65 % para Pinto Saltillo, 132 % para Pinto Rarámuri y 74 % para Pinto Saltillo cultivados bajo sequía constante comparando con el control (Pinto Durango, riego).

Se encontró que otros compuestos como el epigallocatequin galato, epicatequina y el ácido siríngico no tuvieron la misma tendencia en la respuesta a la sequía; el epigallocatequin galato se sintetizó en mayor cantidad durante la sequía constante sólo en Pinto Durango y Saltillo, este compuesto no fue identificado para los materiales cultivados bajo sequía severa. En el caso de la epicatequina se observó un incremento para Pinto Durango y Rarámuri durante la sequía en la fase reproductiva, mientras que para Saltillo el incremento fue durante una sequía moderada. En el contenido de ácido siríngico, sólo Pinto Rarámuri y Pinto Saltillo tuvieron un aumento cuando el cultivo se hizo bajo la influencia de la sequía constante, sin embargo, no se encontró diferencia significativa en el contenido de este compuesto entre las variedades cultivadas bajo las diferentes condiciones de humedad y el control (Cuadro 10). Por otro lado, en el contenido de ácido ferúlico no hubo diferencia significativa entre las variedades obtenidas bajo las diferentes condiciones de humedad y el control (Cuadro 11).

En este estudio se identificaron compuestos que ya se han reportado para otras leguminosas como la soya, entre los que se puede mencionar el ácido gálico, protocatecoico, hidroxibenzóico, salicílico, caféico, hidroxibenzóico y ferúlico (Porter *et al.*, 1986). Por otro lado, Weidner *et al.* (2009) reportaron incrementos en la concentración de algunos ácidos fenólicos en uva cultivada bajo una condición de estrés causada por déficit de humedad, entre los cuales se hace referencia al ácido cumárico, ferúlico y caféico.

Se ha mencionado que cuando las plantas sufren de algunas condiciones de estrés causado por factores bióticos y abióticos, se incrementa la síntesis de compuesto derivados del ácido hidroxicinámico (*p*-hidroxibenzóico, vanílico y gálico) y los derivados del ácido cinámico (ferúlico, *p*-cumárico y caféico). También se incrementa el contenido de ácido salicílico que se genera a partir del cinamato que es producto de la acción de la enzima PAL (fenilalanin amonio- liasa) sobre la fenilalanina (Dixon, *et al.*, 1995).

Cuadro 9. Concentración de ácido fenólicos detectados a $\lambda = 260$ nm en frijol cultivado en diferentes condiciones de humedad.

Variedad	Tratamiento	Compuesto ($\mu\text{g/g}$) $\lambda = 260$		
		Gálico	Protocatecoico	Hidroxibenzóico
Pinto Durango	Riego	4.93 \pm 0.03	3.19 \pm 0.2	1.82 \pm 0.1
	Sequía severa	13.07 \pm 0.05 ^{***}	5.68 \pm 0.1 ^{***}	3.91 \pm 0.05 ^{**}
	Sequía constante	5.60 \pm 0.1 ^{***}	6.87 \pm 0.2 ^{***}	3.98 \pm 0.07 ^{**}
Pinto Rarámuri	Riego	4.27 \pm 0.8	1.77 \pm 0.1 ^{***}	1.71 \pm 0.1
	Sequía severa	11.45 \pm 0.03 ^{***}	3.56 \pm 0.03	3.63 \pm 0.1 ^{**}
	Sequía constante	7.52 \pm 0.3 ^{***}	4.07 \pm 0.004 ^{**}	4.00 \pm 0.1 ^{**}
Pinto Saltillo	Riego	6.56 \pm 0.2 ^{**}	2.17 \pm 0.06 ^{***}	2.10 \pm 0.9
	Sequía severa	8.60 \pm 0.5 ^{***}	3.35 \pm 0.07	2.52 \pm 0.09
	Sequía constante	6.26 \pm 0.3 [*]	4.67 \pm 0.05 ^{***}	3.60 \pm 0.04 ^{**}

$\lambda =$ Longitud de onda. Los datos se expresan como la media \pm EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Cuadro 10. Concentración de compuestos fenólicos detectados a $\lambda = 280$ nm en frijol cultivado en diferentes condiciones de humedad.

Variedad	Tratamiento	Compuesto ($\mu\text{g/g}$) $\lambda = 280$			
		Catequina	EGCG	Epicatequina	Siríngico
Pinto Durango	Riego	0.46 \pm 0.007	0.24 \pm 0.04	0.29 \pm 0.006	1.17 \pm 0.01
	Sequía severa	1.37 \pm 0.1 ^{***}	ND	1.50 \pm 0.03 ^{***}	1.97 \pm 0.06
	Sequía constante	0.69 \pm 0.002	0.43 \pm 0.07 [*]	1.34 \pm 0.1 ^{***}	0.61 \pm 0.01
Pinto Rarámuri	Riego	0.52 \pm 0.2	0.62 \pm 0.01 ^{**}	0.52 \pm 0.02	0.59 \pm 0.06
	Sequía severa	1.10 \pm 0.07 ^{***}	ND	1.15 \pm 0.01 ^{***}	0.83 \pm 0.02
	Sequía constante	1.44 \pm 0.1 ^{**}	0.43 \pm 0.07 [*]	1.04 \pm 0.03 ^{***}	0.94 \pm 0.03
Pinto Saltillo	Riego	1.22 \pm 0.01 ^{**}	0.62 \pm 0.03 ^{**}	0.53 \pm 0.03 [*]	0.73 \pm 0.05
	Sequía severa	1.2 \pm 0.07 ^{***}	ND	0.40 \pm 0.06	1.30 \pm 0.1
	Sequía constante	2.06 \pm 0.002 ^{***}	0.74 \pm 0.03 ^{***}	2.28 \pm 0.1 ^{***}	1.45 \pm 0.9

λ = Longitud de onda, EGCG = Epigallocatequin galato. Los datos se expresan como la media \pm EE. ^{***} $p \leq 0.001$, ^{**} $p \leq 0.01$ y ^{*} $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Cuadro 11. Concentración de ácido fenólicos detectados a $\lambda = 320$ nm en frijol cultivado en diferentes condiciones de humedad.

Variedad	Tratamiento	Compuesto ($\mu\text{g/g}$) $\lambda = 320$			
		Clorogénico	Caféico	Ferúlico	Salicílico
Pinto Durango	Riego	2.33 \pm 0.3	0.47 \pm 0.9	1.67 \pm 0.05	2.39 \pm 0.08
	Sequía severa	3.32 \pm 0.01 ^{***}	4.91 \pm 0.03 ^{***}	1.32 \pm 0.9	3.63 \pm 0.04 ^{***}
	Sequía constante	3.98 \pm 0.02 ^{***}	0.60 \pm 0.009	2.60 \pm 0.01	3.93 \pm 0.1 ^{***}
Pinto Rarámuri	Riego	3.86 \pm 0.1 ^{***}	1.30 \pm 0.4 ^{**}	1.30 \pm 0.08	0.77 \pm 0.03 ^{***}
	Sequía severa	3.74 \pm 0.05 ^{***}	5.73 \pm 0.007 ^{***}	0.52 \pm 0.1	1.04 \pm 0.05 ^{***}
	Sequía constante	6.76 \pm 0.03 ^{***}	4.47 \pm 0.1 ^{***}	2.60 \pm 0.07	1.18 \pm 0.03 ^{***}
Pinto Saltillo	Riego	4.52 \pm 0.08 ^{***}	3.59 \pm 0.05 ^{***}	2.15 \pm 0.03	0.88 \pm 0.2 ^{***}
	Sequía severa	3.35 \pm 0.009 ^{***}	5.00 \pm 0.2 ^{***}	1.55 \pm 0.01	1.34 \pm 0.01 ^{***}
	Sequía constante	5.41 \pm 0.2 ^{***}	4.59 \pm 0.1 ^{***}	2.64 \pm 0.06	1.80 \pm 0.05 ^{**}

λ = Longitud de onda. Los datos se expresan como la media \pm EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

7.11 Capacidad antioxidante

Variaciones en la concentración de fitoquímicos causado por sequía permite cambios en el metabolismo oxidativo de las plantas, esto promueve la síntesis de antioxidantes que protegen a las células contra el daño y ayudan a controlar las reacciones oxidativas causadas por las especies reactivas de oxígeno (EROs) (Kirakosyan *et al*, 2003).

Los fitoquímicos presentes en las plantas tienen un efecto sinérgico responsable de su actividad antioxidante lo que permite remover radicales libres perjudiciales (Fischer *et al*. 2013). Por otro lado, se han reportado varios métodos para la medición de la capacidad antioxidante, independientemente del compuesto que contribuye en la capacidad de remover los radicales libres en las plantas, sin embargo, se ha propuesto que es preferible la evaluación de esta variable con más de un método para determinar el potencial antioxidante de una muestra y comprender aún más la predicción de su eficacia (Apak *et al.*, 2004; Aruoma, 2003).

Los resultados de los métodos para medir la capacidad antioxidante se reportan como el índice de concentración para inhibir al 50 % el radical (IC_{50}). Con el método de la capacidad inhibitoria del radical óxido nítrico, se observó una disminución de la concentración inhibitoria media para todos los tratamientos de sequía comparado con el control (Pinto Durango, riego), siendo más importante el efecto para la sequía constante (Cuadro 12).

Pinto Rarámuri fue la variedad con menor capacidad antioxidante bajo todos los tratamientos. En el Anexo 27 se observa que existe interacción en la respuesta de las variedades sobre las diferentes condiciones de humedad, Pinto Saltillo es superior en la capacidad de inhibir el radical bajo riego mientras que Pinto Durango tiene mayor capacidad antioxidante bajo la sequía constante.

Cuadro 12. Capacidad inhibitoria del frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad para inhibir el radical óxido nítrico.

Muestra	IC₅₀ (mg/mL)		
(+) Catequina	0.006		
	Tratamiento		
	Riego	Sequía severa	Sequía constante
Pinto Durango	19.5 ± 0.5	7.7 ± 0.5 ^{***}	5.7 ± 0.6 ^{***}
Pinto Rarámuri	21.7 ± 0.3 ^{**}	14.4 ± 0.09 ^{***}	8.6 ± 0.4 ^{***}
Pinto Saltillo	16.2 ± 0.2 ^{***}	9.4 ± 0.5 ^{***}	7.4 ± 0.3 ^{***}

Los datos se expresan como la media ± EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Con el método de la capacidad para inhibir la oxidación de la LDL (Cuadro 13), el IC₅₀ presentó un comportamiento similar al de inhibición de óxido nítrico, todas las muestras tuvieron un IC₅₀ menor que el control, presentado la mayor capacidad antioxidante todas las variedades cultivadas bajo sequía constante. No obstante, el efecto de la interacción es diferente que en la inhibición de óxido nítrico, Pinto Durango tiene menor capacidad antioxidante en riego y sequía severa que Rarámuri, este comportamiento no se repite en la sequía severa (Anexo 28).

Cuadro 13. Capacidad de frijol cultivado bajo diferentes condiciones de humedad para inhibir la oxidación de la LDL

Muestra	IC₅₀ (mg/mL)		
(+) Catequina	0.002		
	Tratamiento		
	Riego	Sequía severa	Sequía constante
Pinto Durango	7.3 ± 0.7	5.2 ± 0.3 ^{***}	2.4 ± 0.6 ^{**}
Pinto Rarámuri	4.2 ± 0.1 ^{***}	3.1 ± 0.3 ^{***}	2.8 ± 0.4 ^{***}
Pinto Saltillo	5.0 ± 0.1 ^{**}	3.5 ± 0.1 ^{***}	1.4 ± 0.6 ^{***}

Los datos se expresan como la media ± EE. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$ vs el control (Pinto Durango, riego) indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Dunnett.

Las variaciones encontradas entre el método de la inhibición del radical óxido nítrico y la inhibición de la oxidación de la LDL probadas en extractos de frijol común pudieran atribuirse a la diversidad de los compuestos antioxidantes y por lo tanto a su capacidad de interacción con los radicales libres u otras EROs.

Yordanov *et al.* (2000) mencionan que el incremento en el contenido total de antioxidantes bajo sequía es variable, dependiendo de la actividad en la síntesis y distribución de diferentes compuestos en la planta, y también de otros factores, por ejemplo, la duración e intensidad del estrés.

VIII. CONCLUSIONES

Una condición de sequía moderada en la fase vegetativa y reproductiva de la planta mejora el rendimiento por superficie sembrada y el tamaño de grano de frijol común.

La concentración de proteína incrementa bajo condiciones de sequía y la digestibilidad proteica *in vitro* se mantiene, lo que sugiere que la proteína de frijol producida bajo estrés hídrico tiene una calidad similar a la proteína presente en el grano cultivado bajo riego.

Las condiciones humedad en las que se cultive el frijol tienen una importante influencia sobre la absorción de hierro y zinc, esta se mejora por el efecto de la sequía constante, incrementando el contenido de estos minerales en el grano.

Compuestos con propiedades funcionales como la fibra dietaria total, almidón resistente y oligosacáridos aumentaron con la sequía constante, esto permite obtener un alimento con mayor calidad, y por lo tanto, con un mejor potencial benéfico para la salud humana.

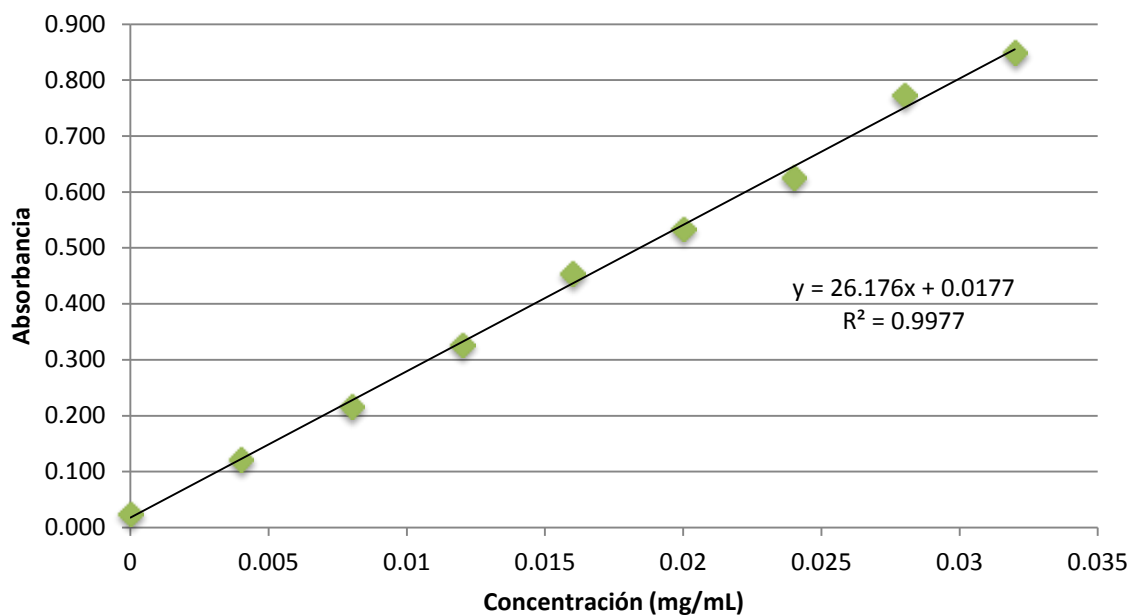
El estrés hídrico por sequía, induce cambios en el metabolismo de las plantas, ya que se observó mayor concentración de fenoles totales, taninos condensados, flavonoides y antocianinas en los granos de frijol de las variedades Pinto Durango, Rarámuri y Saltillo.

El estrés hídrico causado por sequía, mejoró la capacidad antioxidante de todas las variedades de frijol estudiadas, por lo tanto, algunos compuestos fenólicos específicos y/o otros fitoquímicos se incrementan durante dicho tratamiento, los cuales potencian la calidad nutracéutica del frijol.

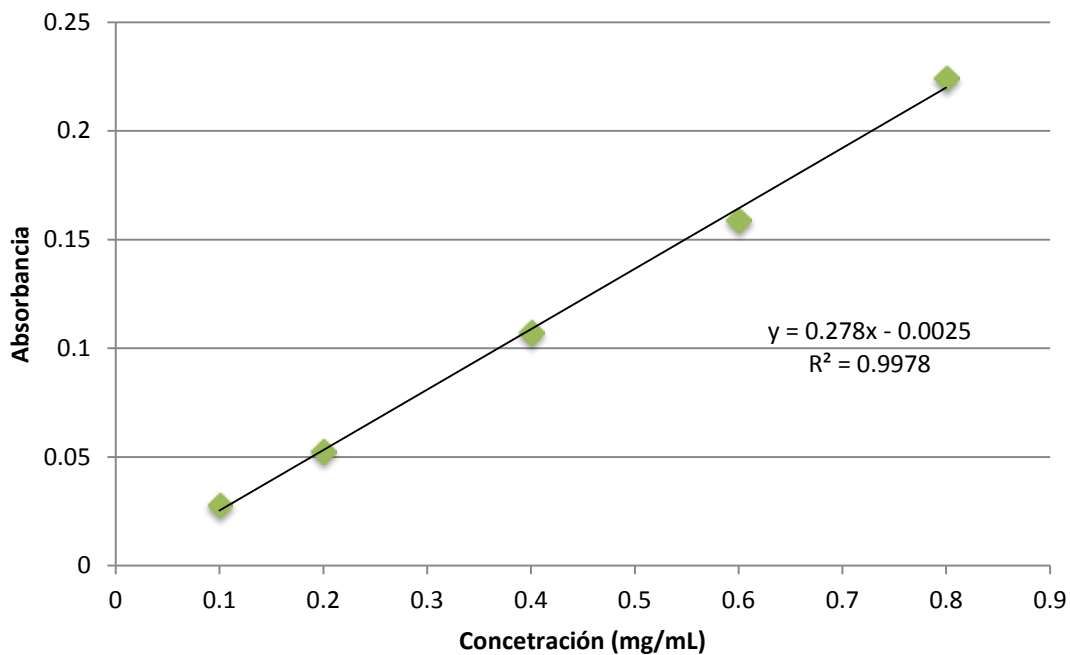
El frijol común sembrado bajo condiciones de sequía constante presenta mejor calidad nutrimental y nutracéutica, en especial la variedad Pinto Saltillo.

XI. Anexos

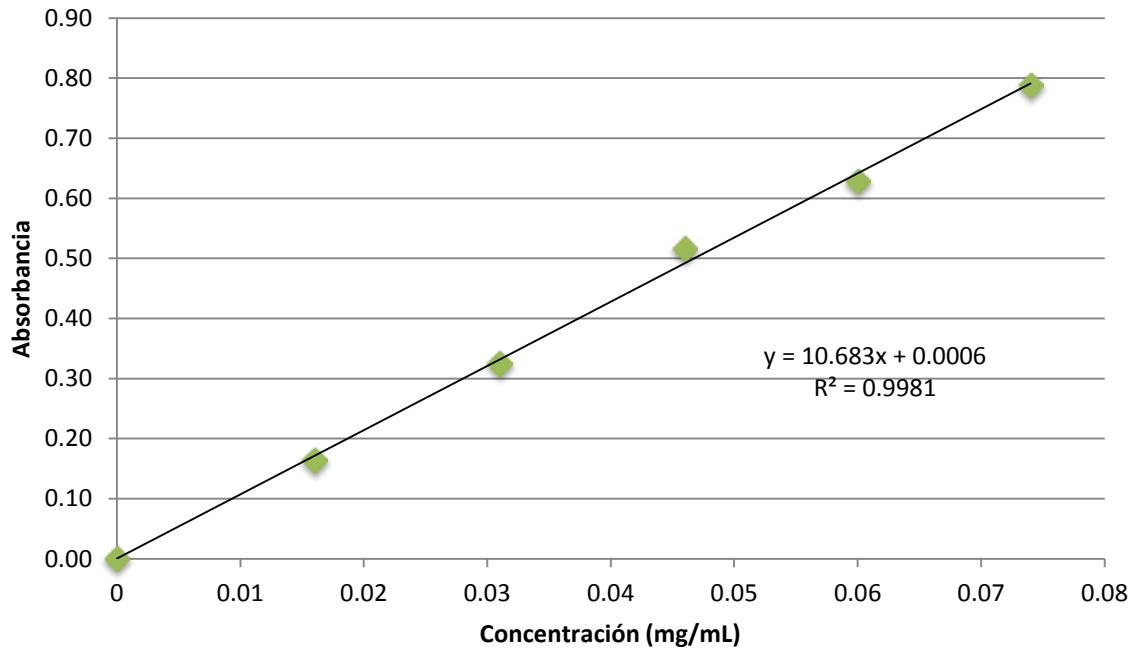
1. Curva de calibración para la determinación de fenoles totales mg eq. de ácido gálico/mL



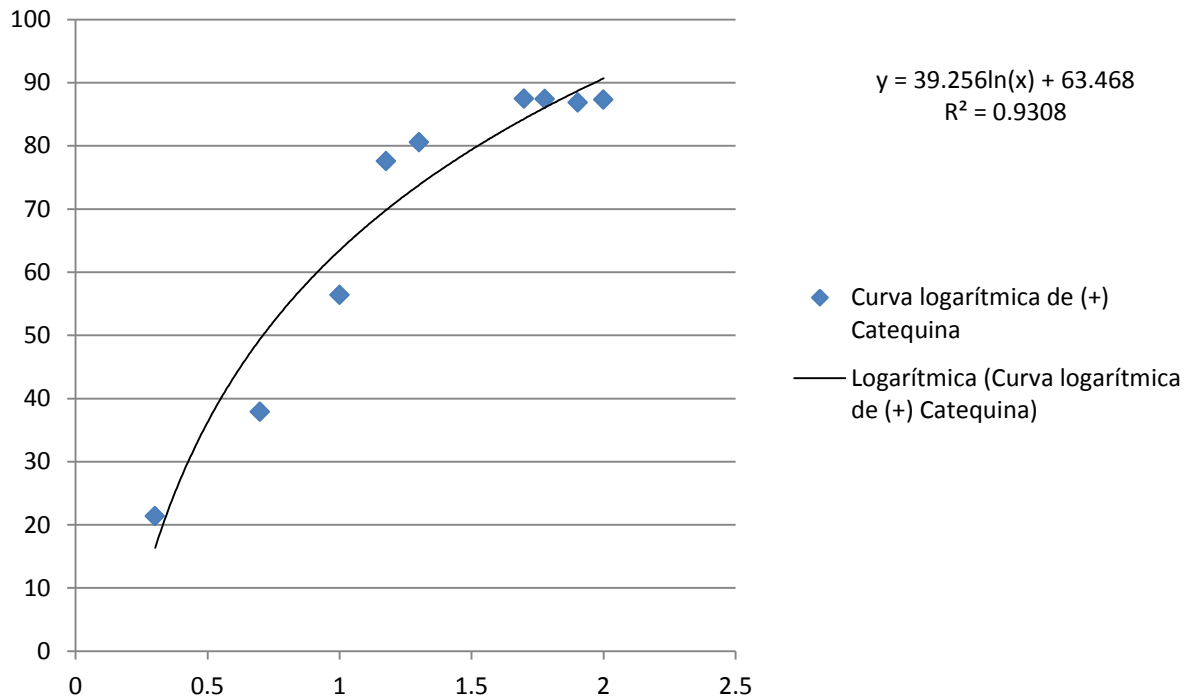
2. Curva de calibración para la determinación de taninos condensados mg eq. de (+) catequina/mL



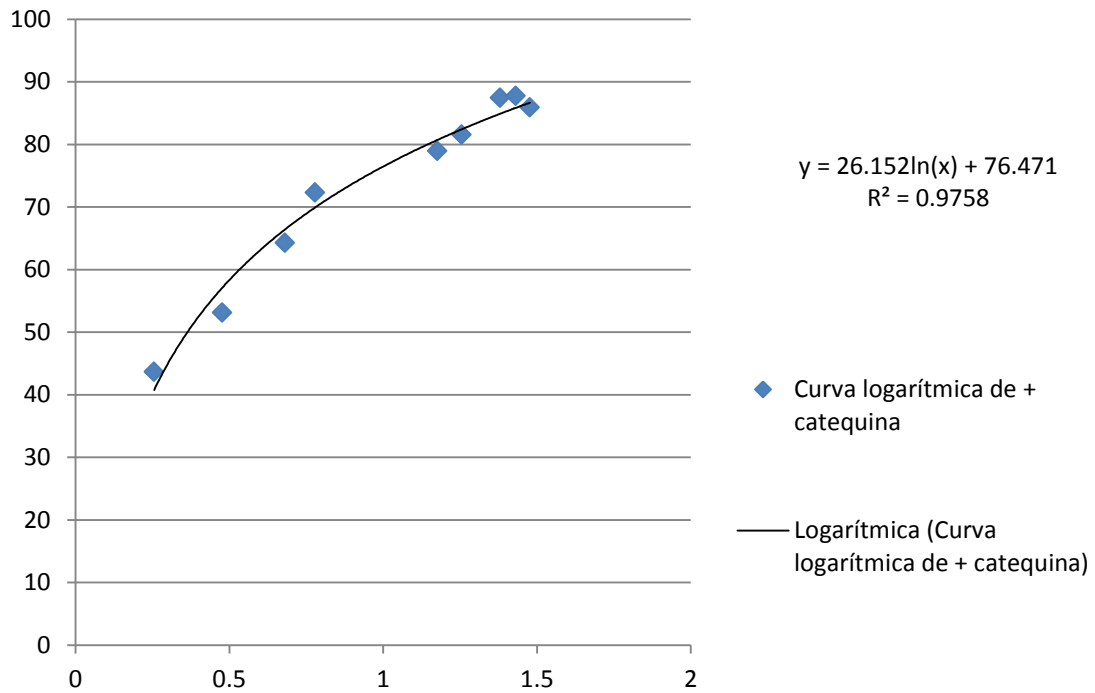
3. Curva de calibración para la determinación de flavonoides mg eq. de (+) catequina/mL



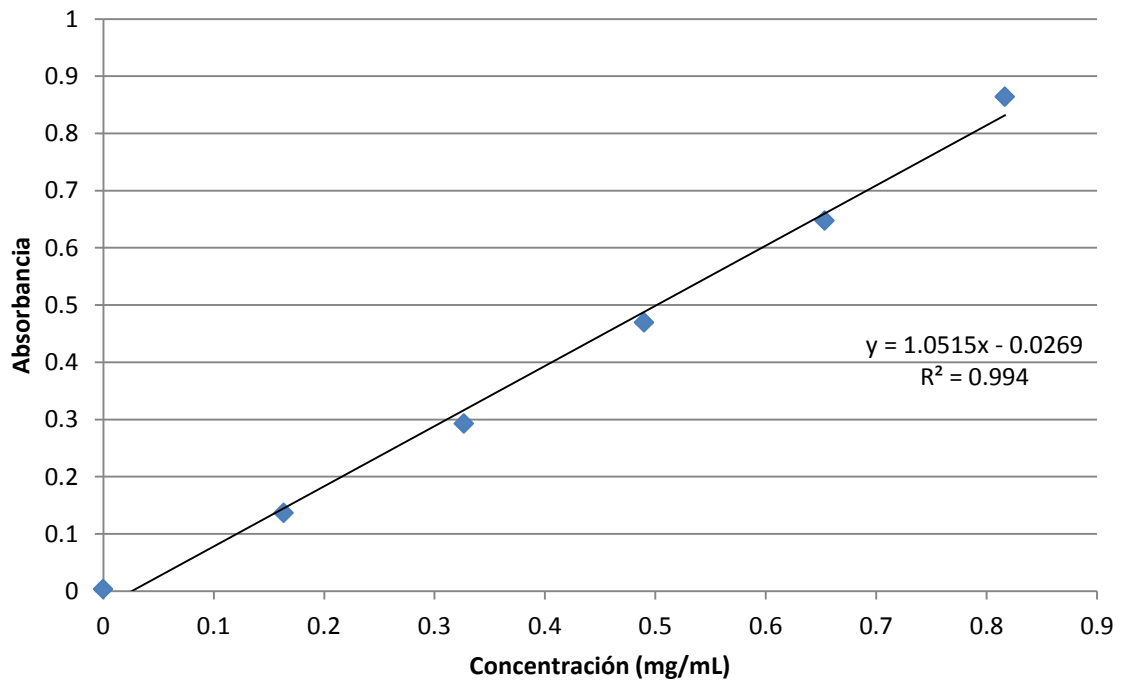
4. Curva de estándar logarítmica de (+) catequina para comparar IC₅₀ en la capacidad antioxidante (óxido nítrico)



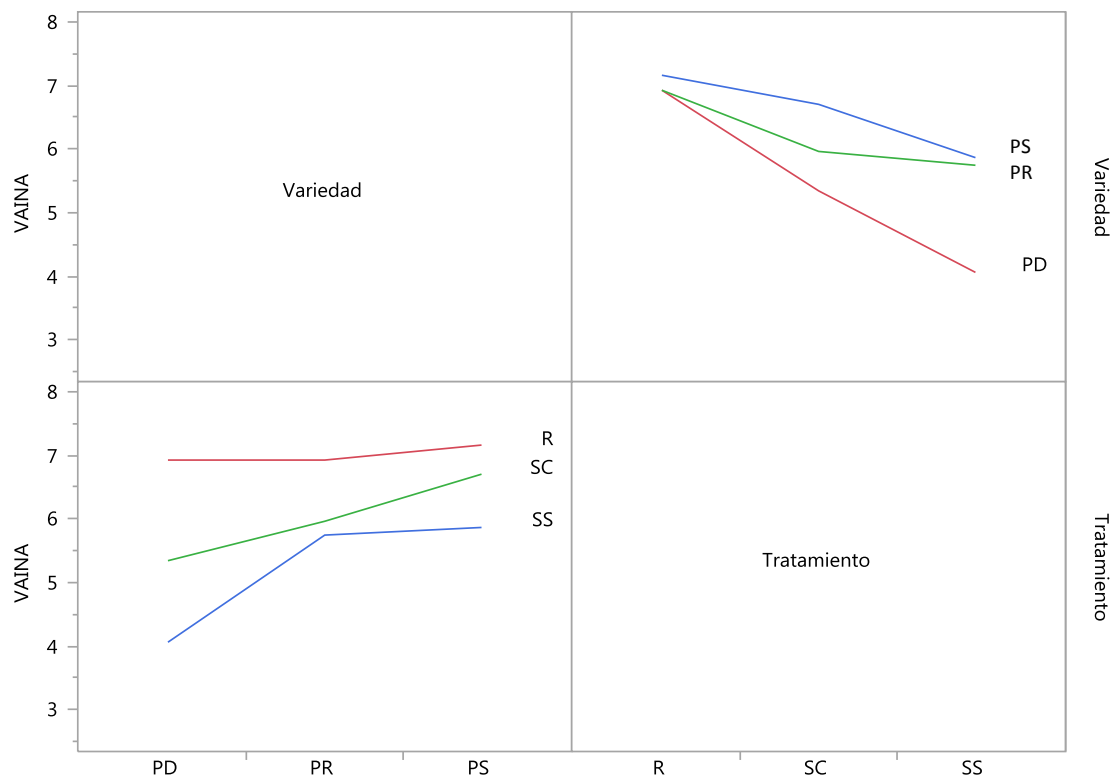
5. Curva de estándar logarítmica de (+) catequina para comparar IC₅₀ en la capacidad antioxidante (óxido nítrico)



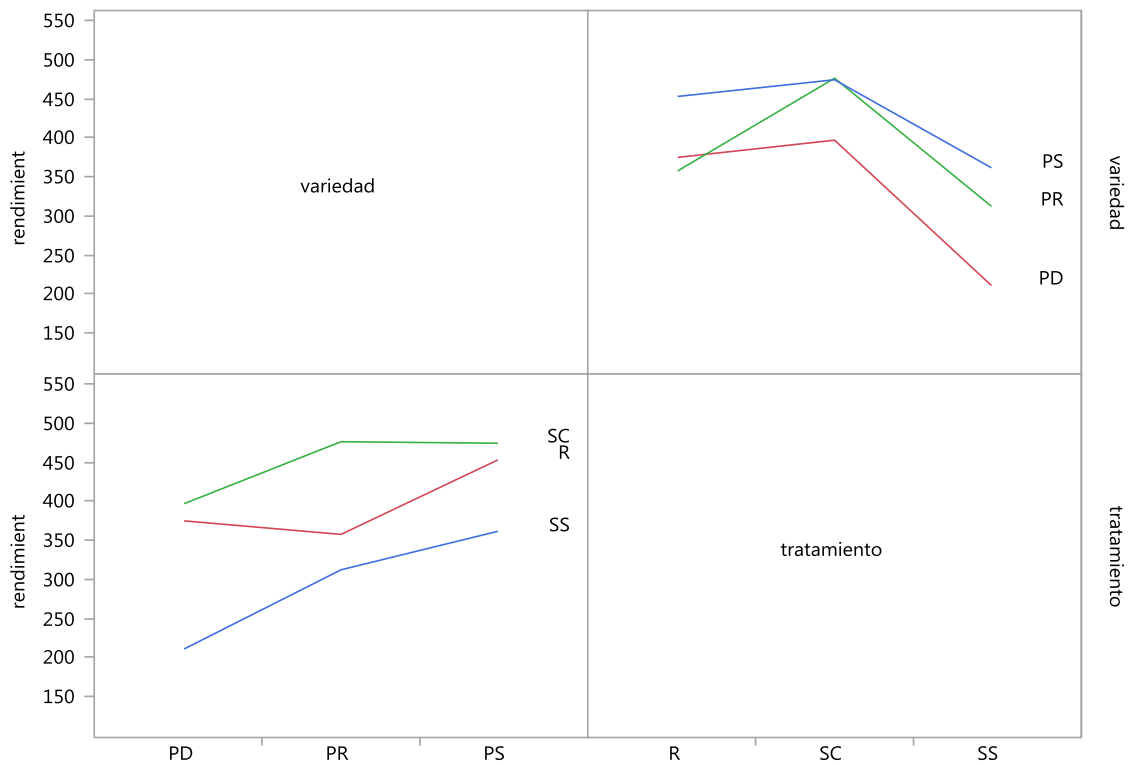
6. Curva de estándar de glucosa para la determinación de almidón resistente



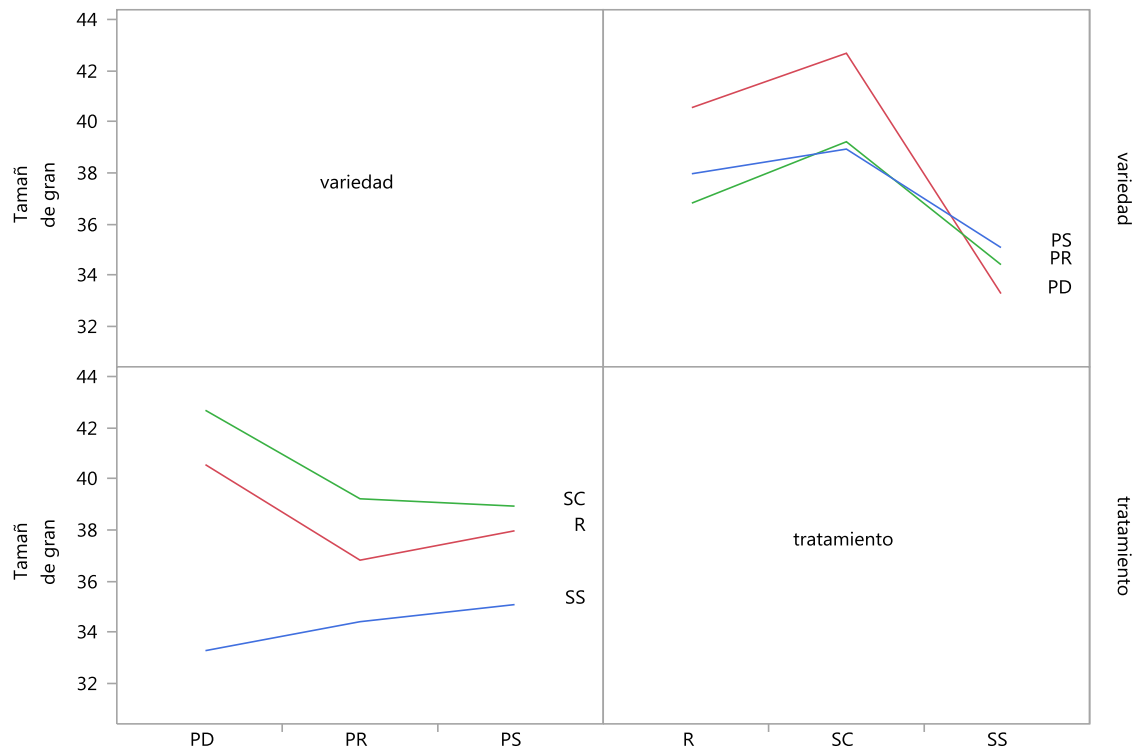
7. Perfil de interacción para no. de vainas por planta



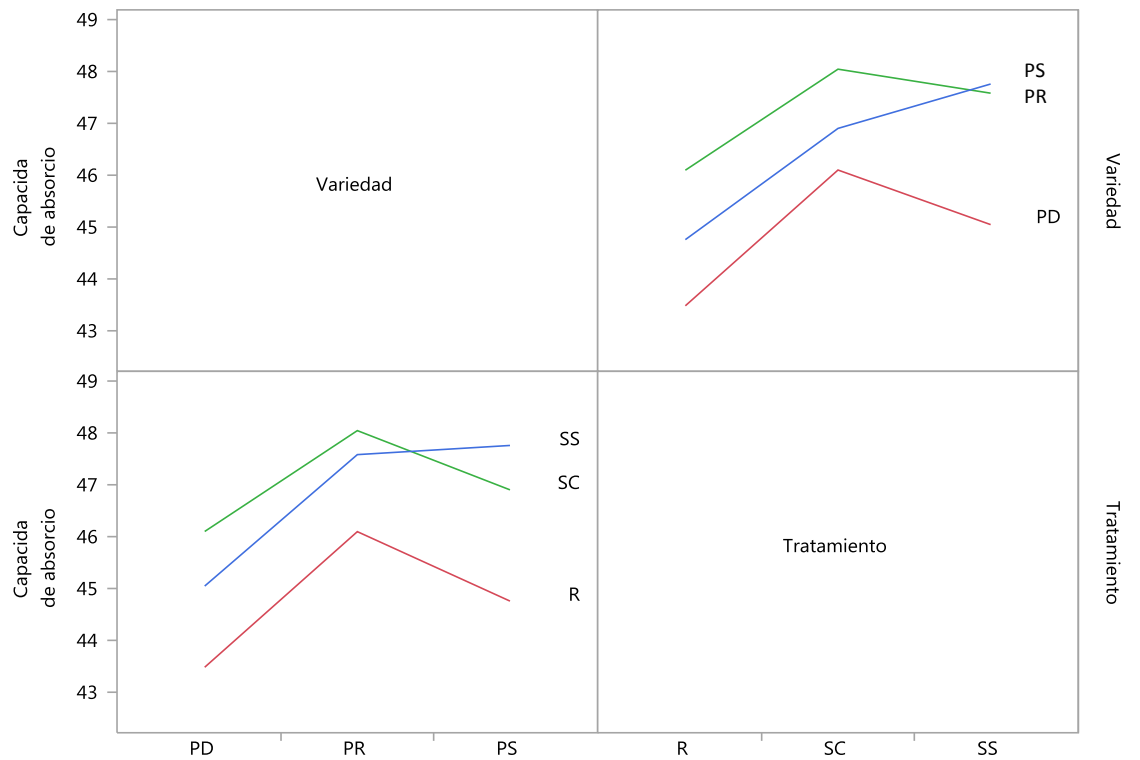
8. Perfil de interacción para rendimiento



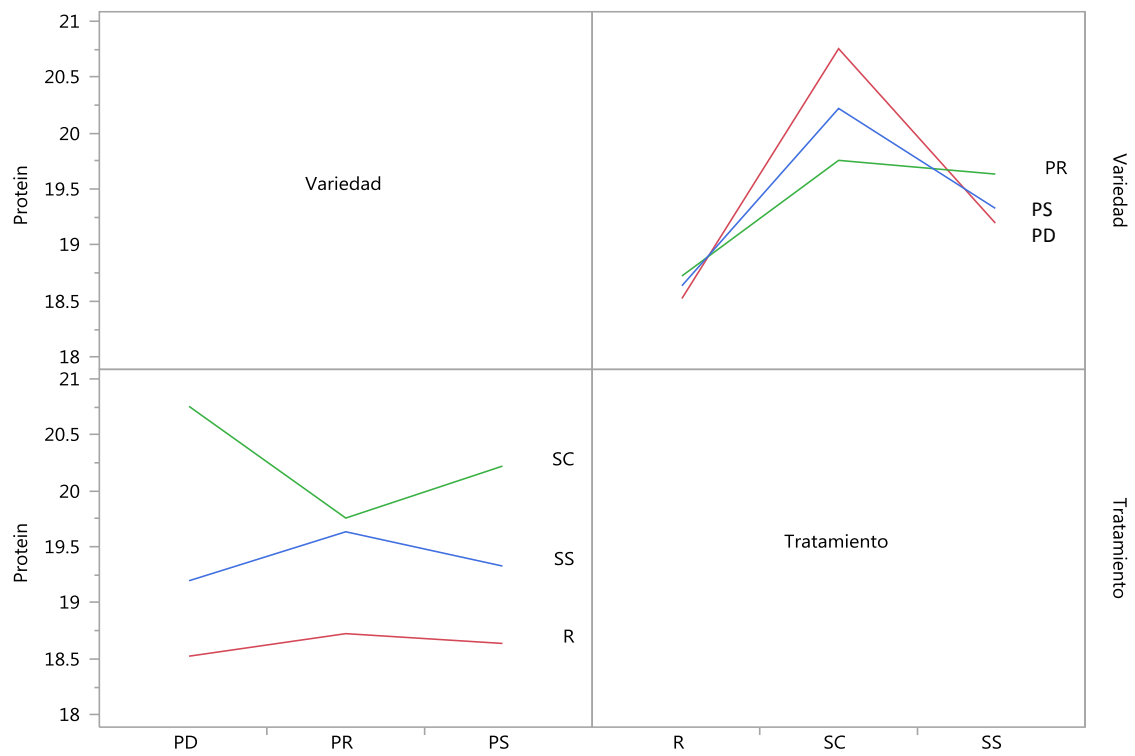
9. Perfil de interacción para tamaño de grano



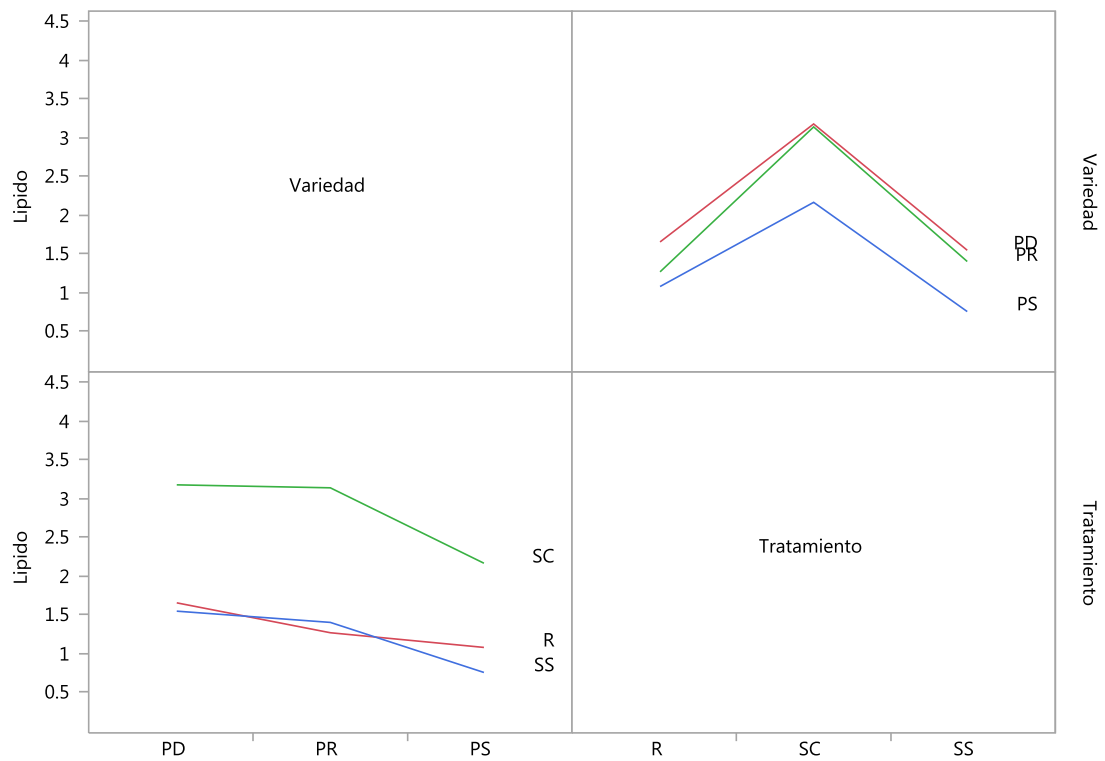
10. Perfil de interacción para capacidad de absorción de agua



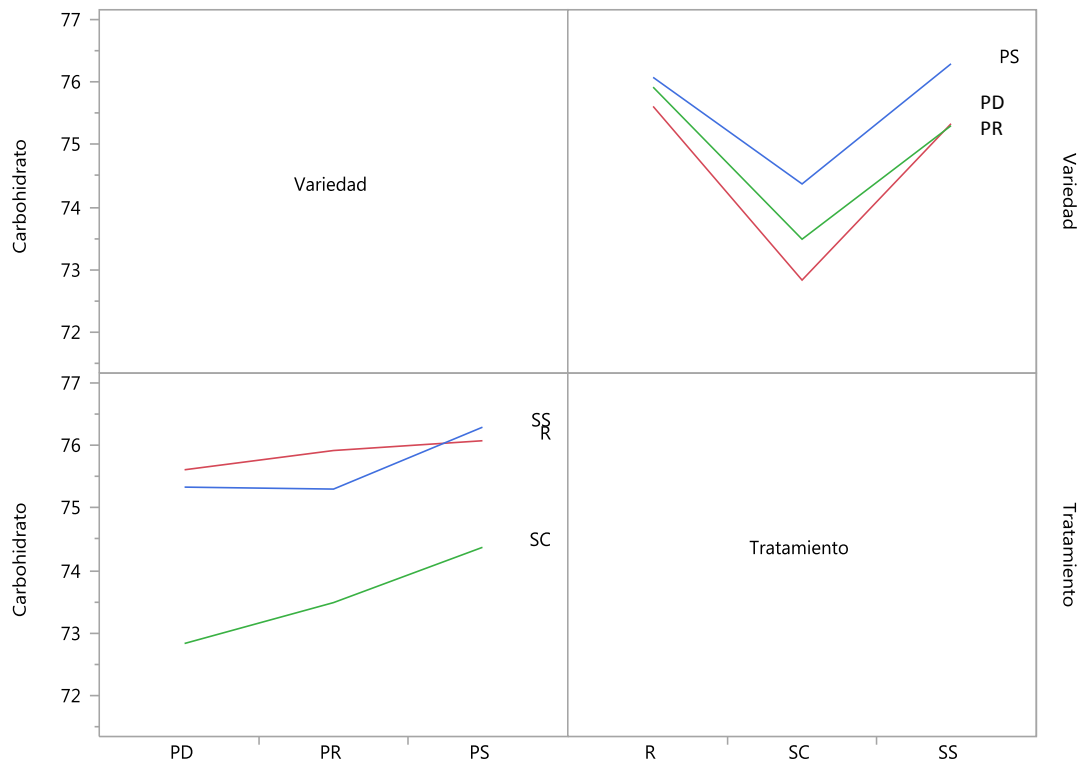
11. Perfil de interacción para contenido de proteínas



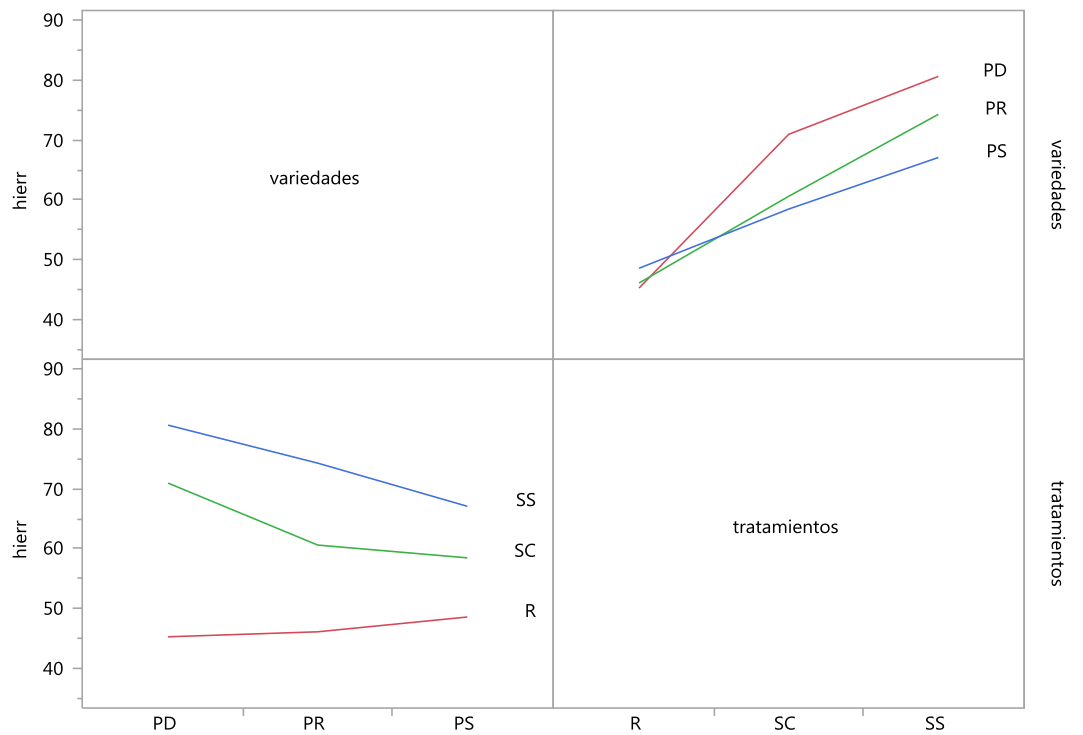
12. Perfil de interacción para contenido de lípidos



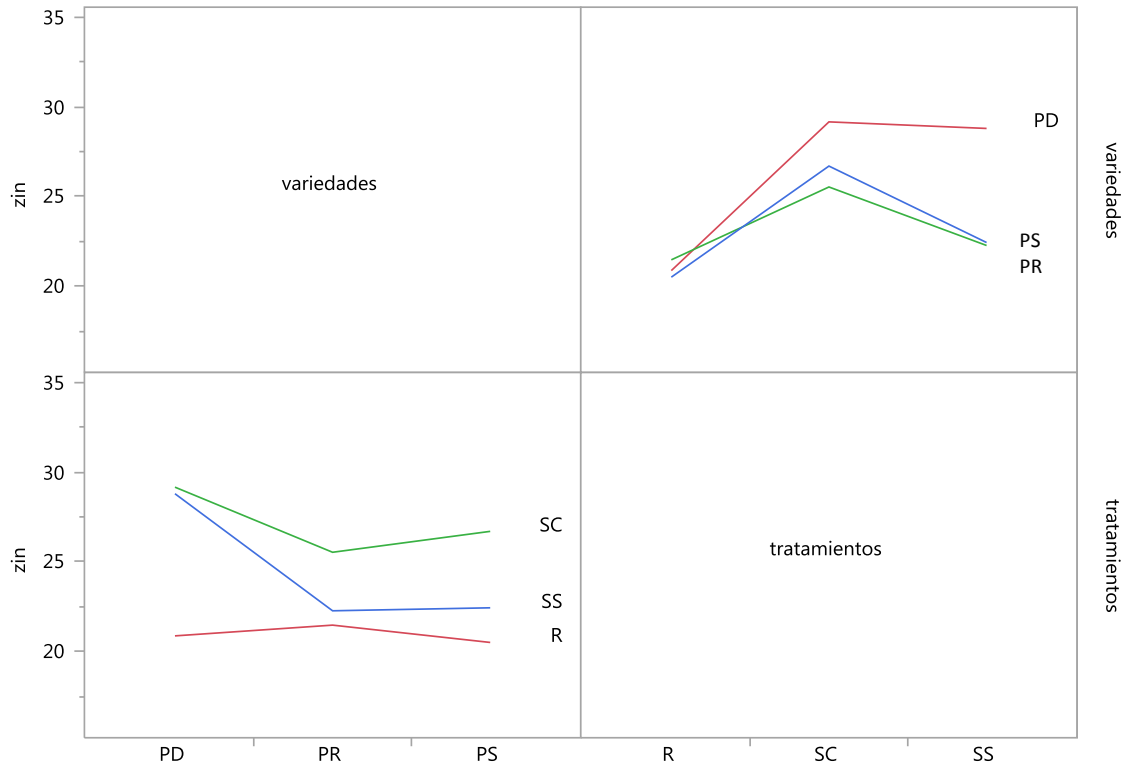
13. Perfil de interacción para contenido de carbohidratos



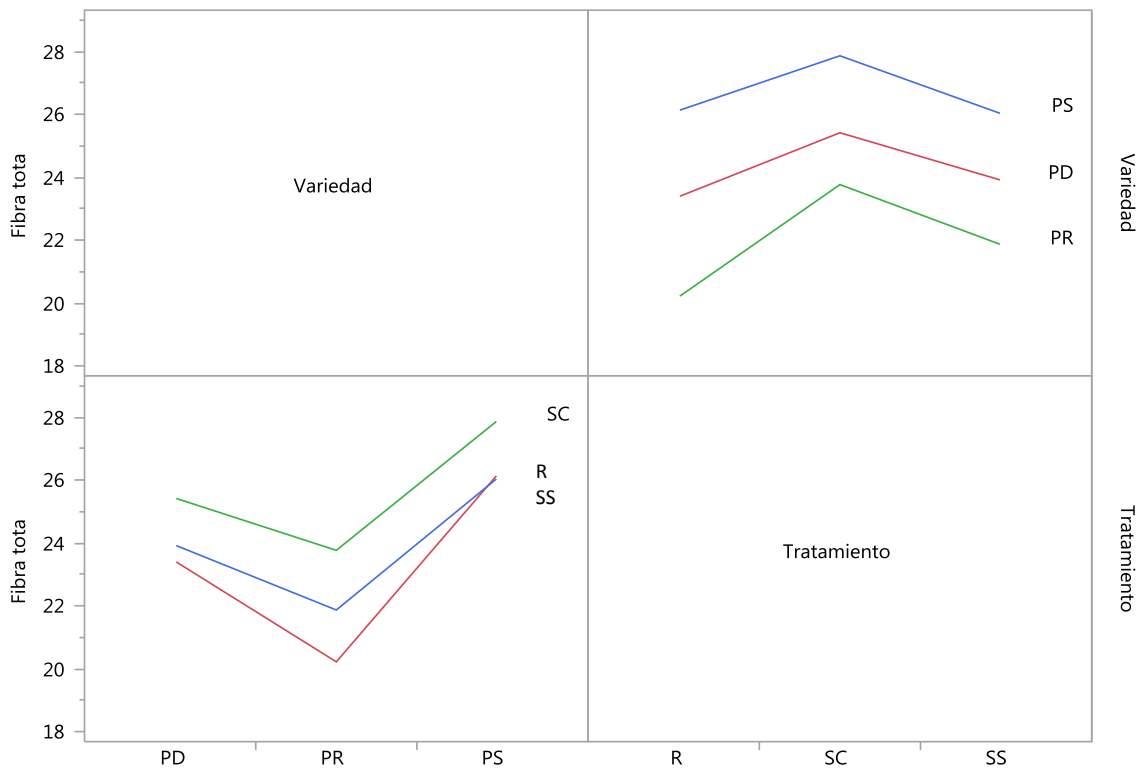
14. Perfil de interacción para contenido de hierro



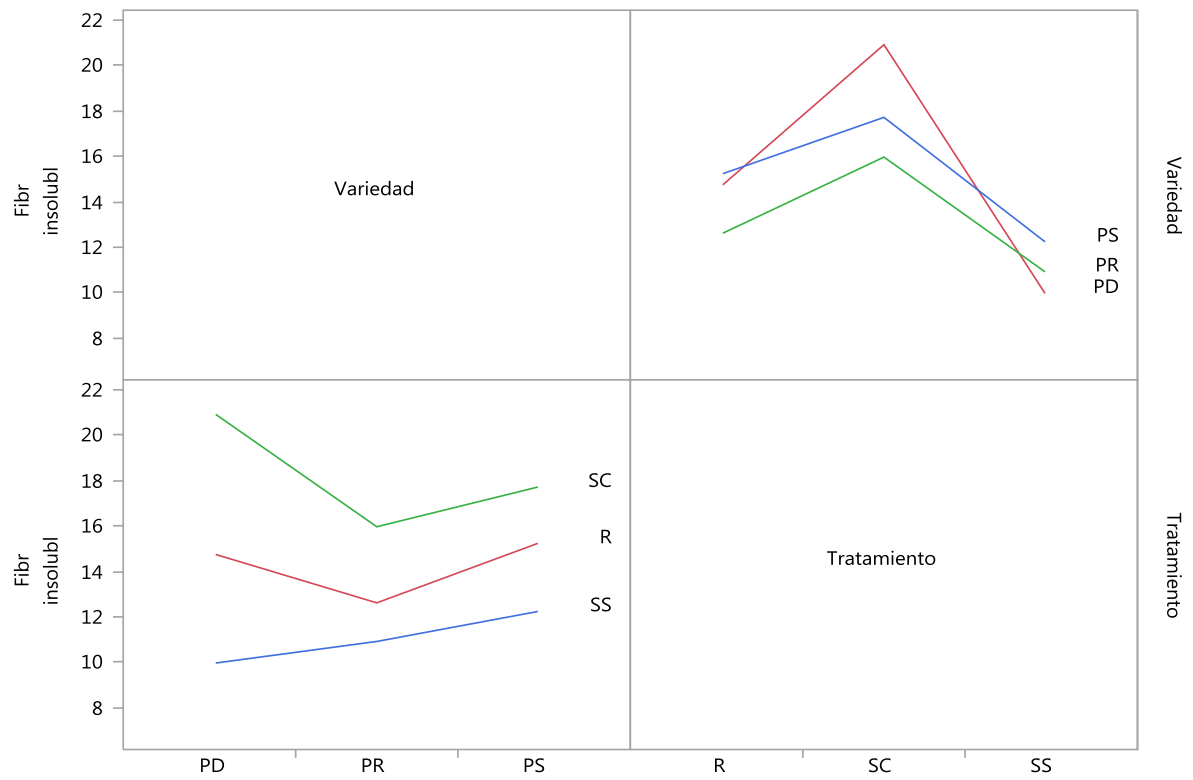
15. Perfil de interacción para contenido de zinc



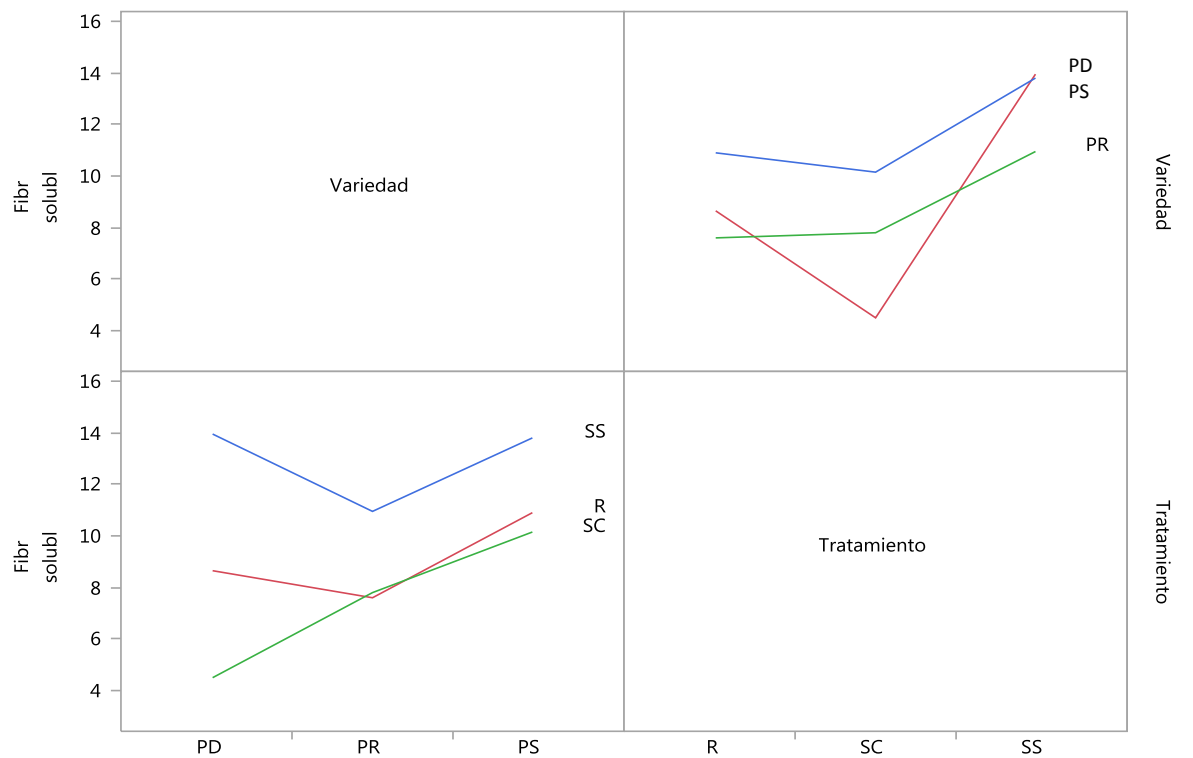
16. Perfil de interacción para contenido de fibra total



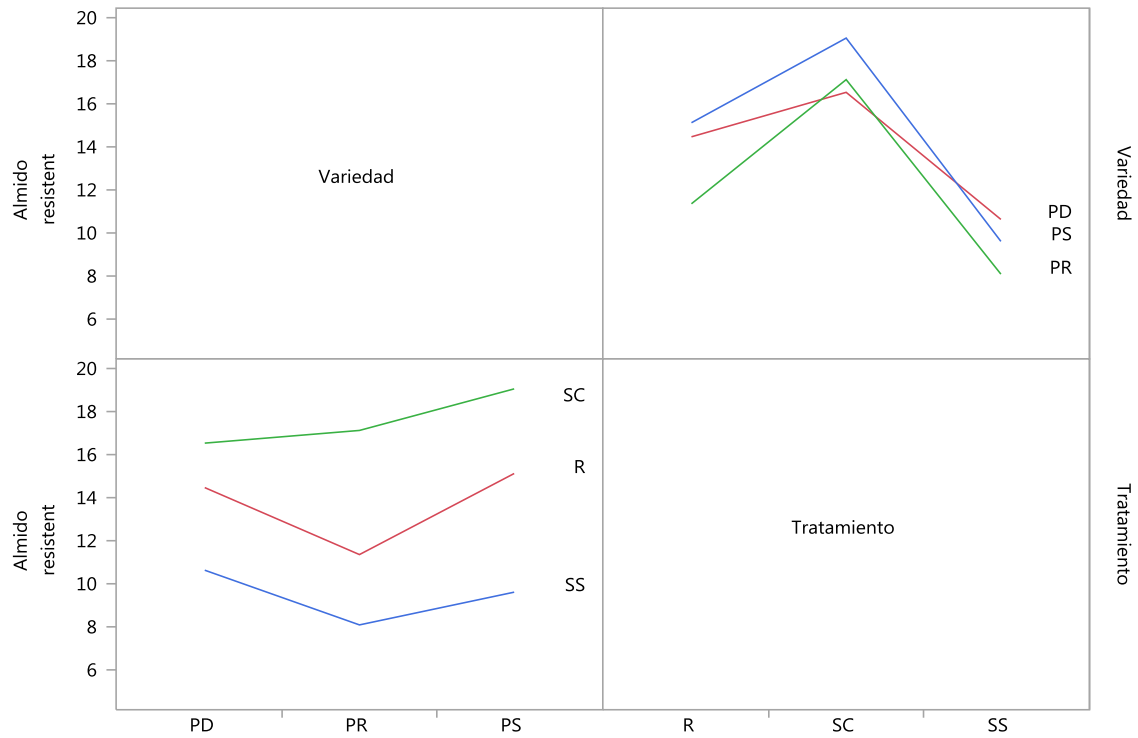
17. Perfil de interacción para contenido de fibra insoluble



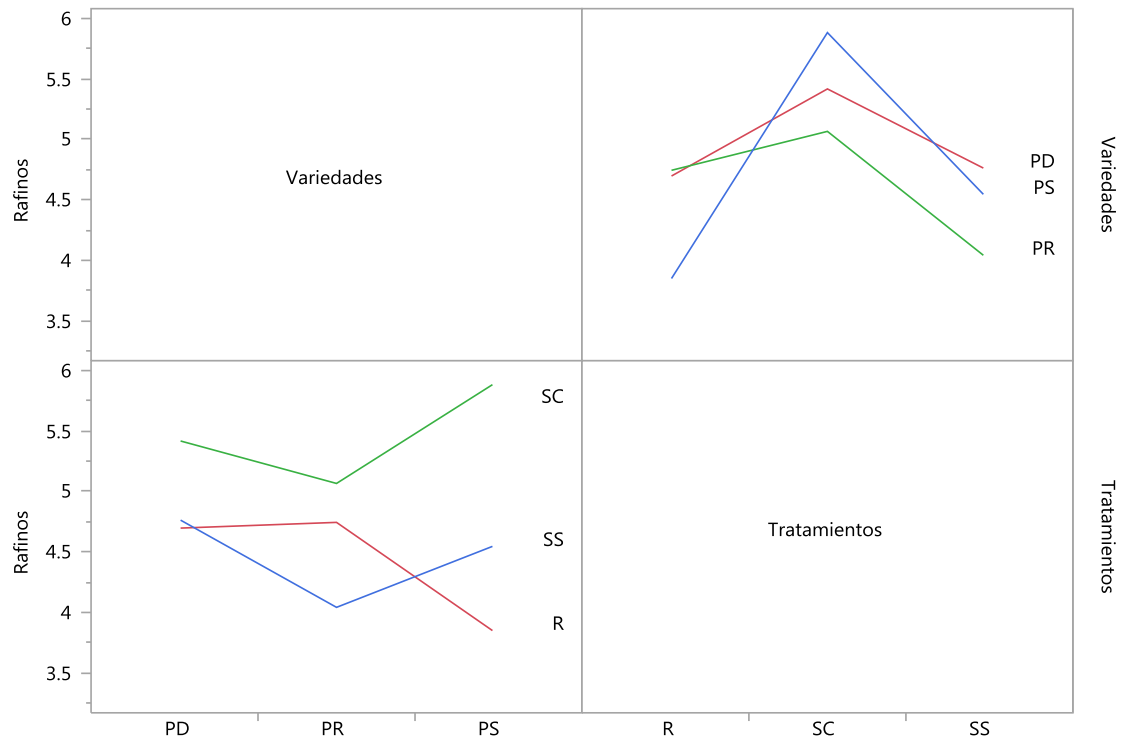
18. Perfil de interacción para contenido de fibra soluble



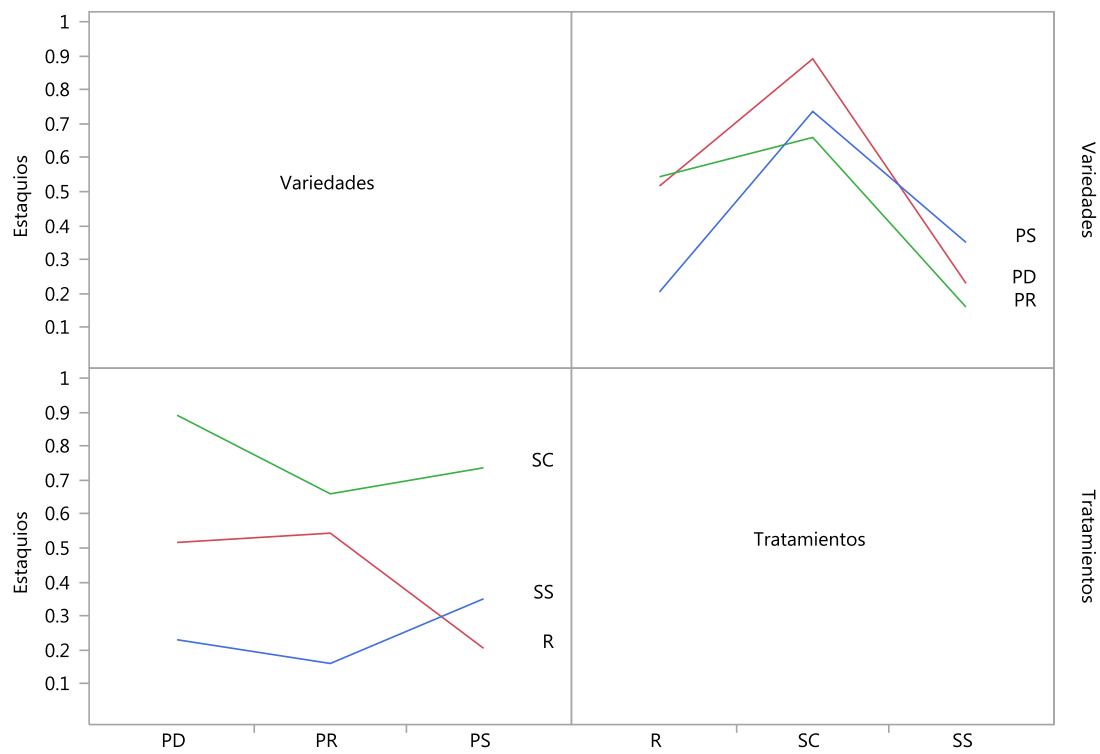
19. Perfil de interacción para contenido de almidón resistente



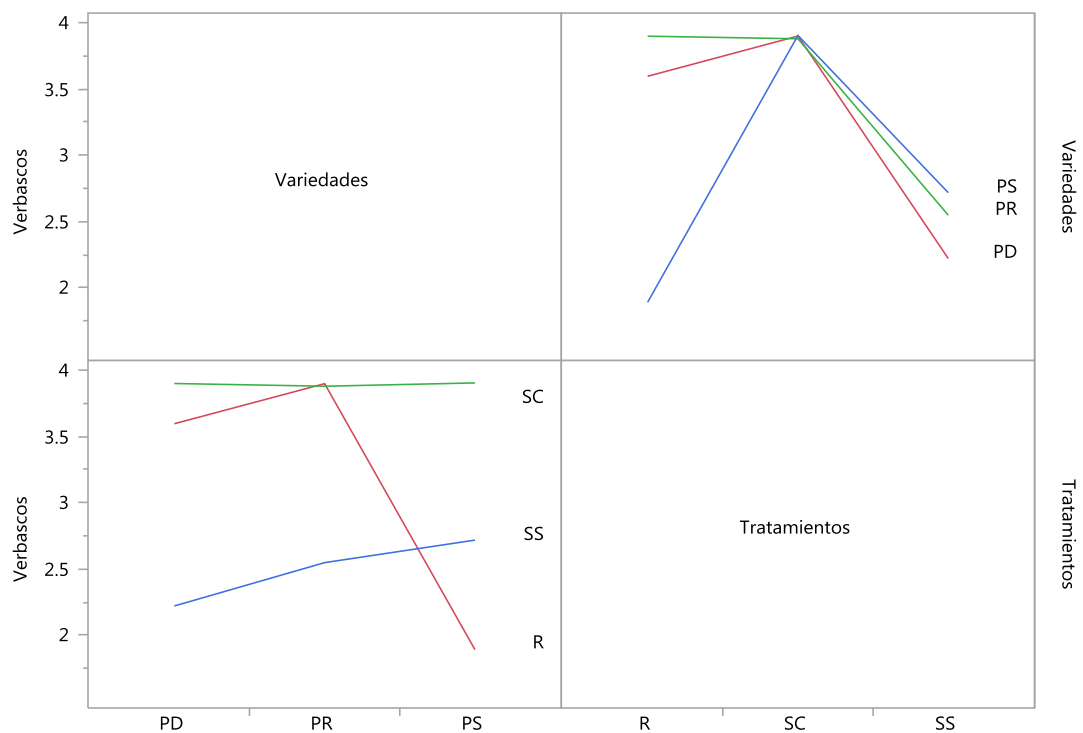
20. Perfil de interacción para contenido de rafinosa



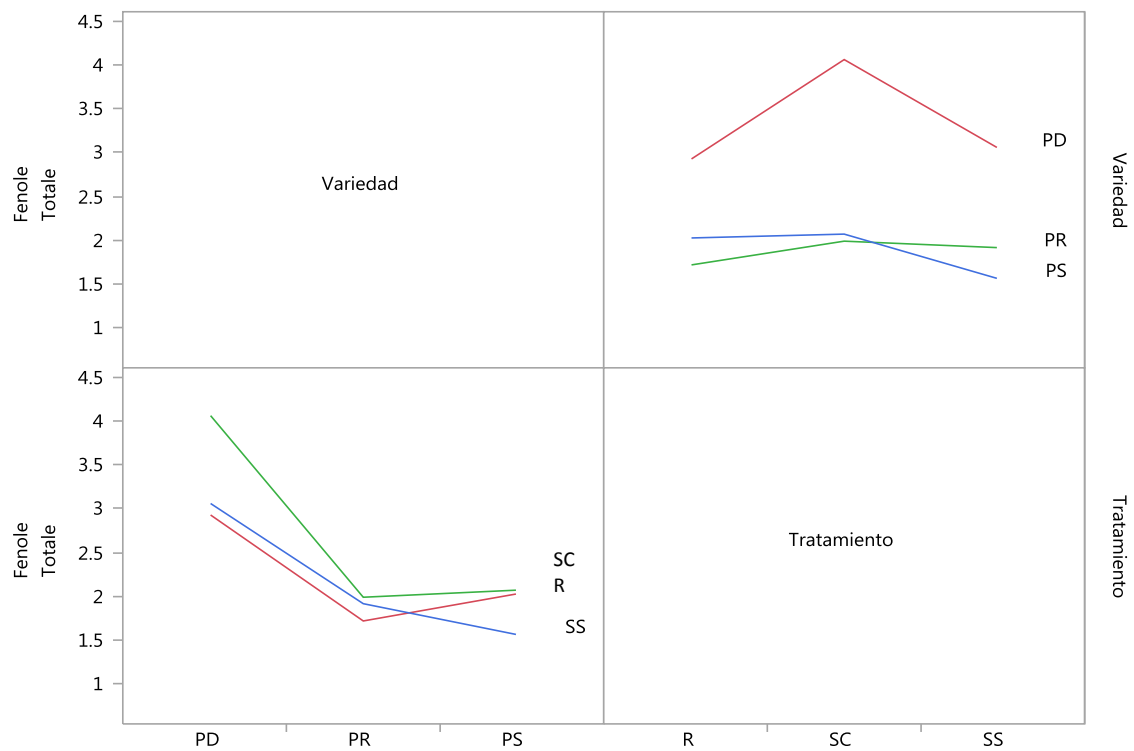
21. Perfil de interacción para contenido de estaquiosa



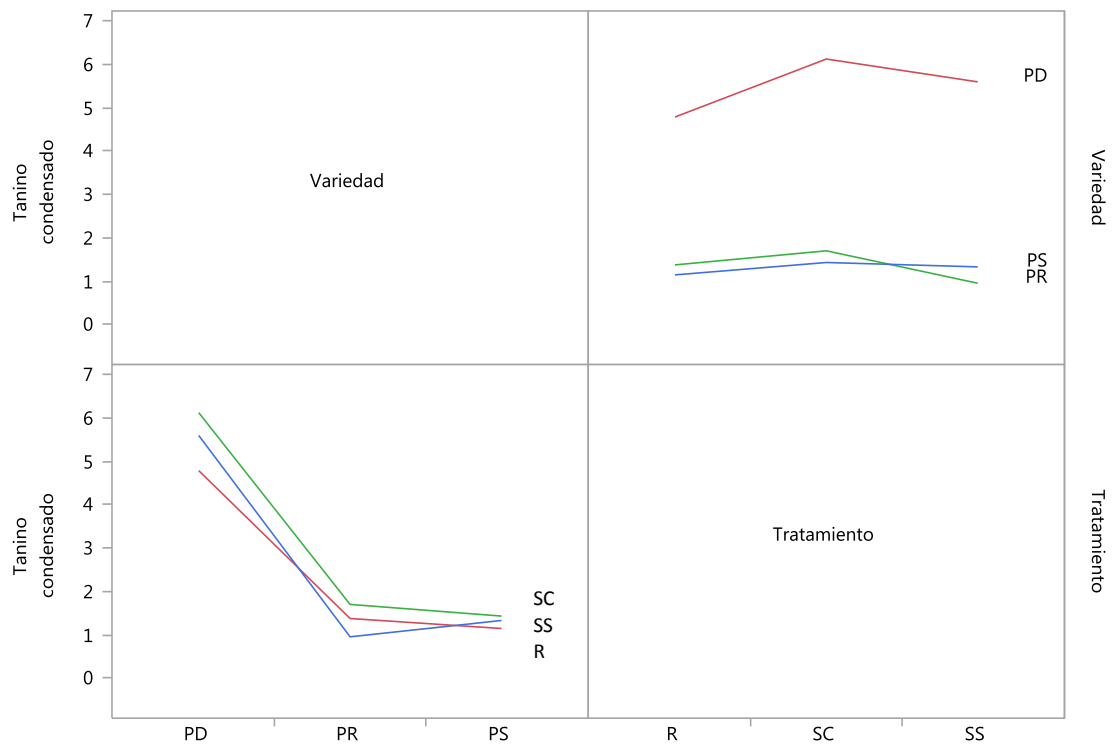
22. Perfil de interacción para contenido de verbascosa



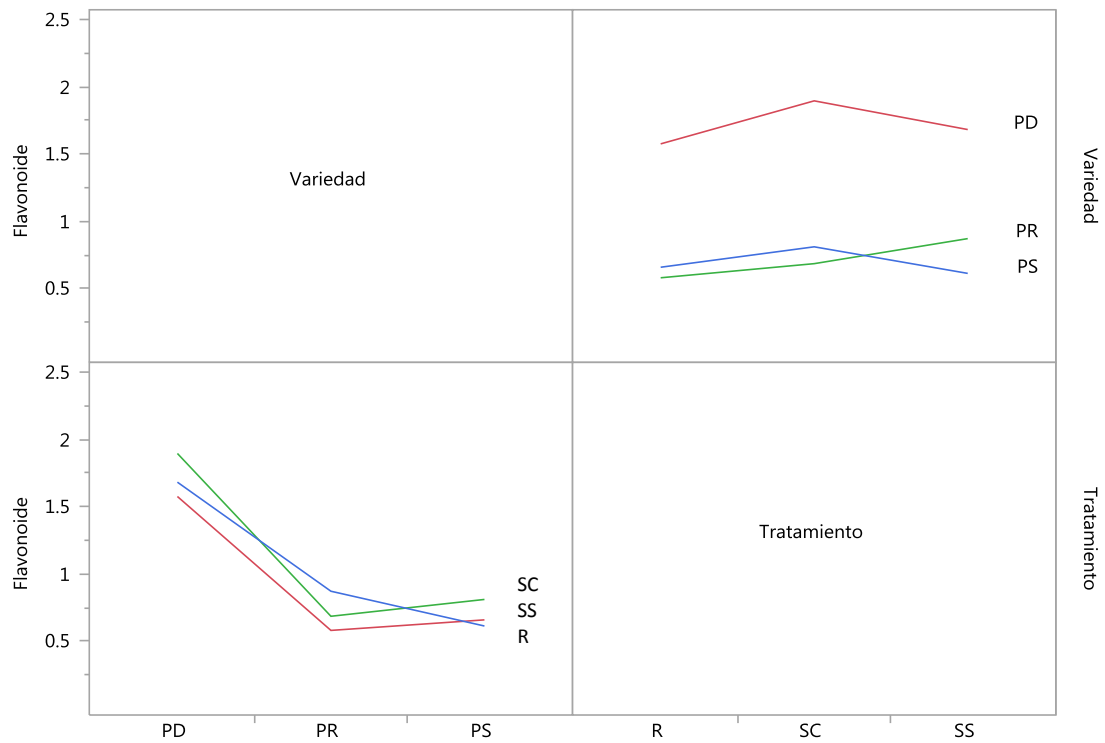
23. Perfil de interacción para contenido de fenoles totales



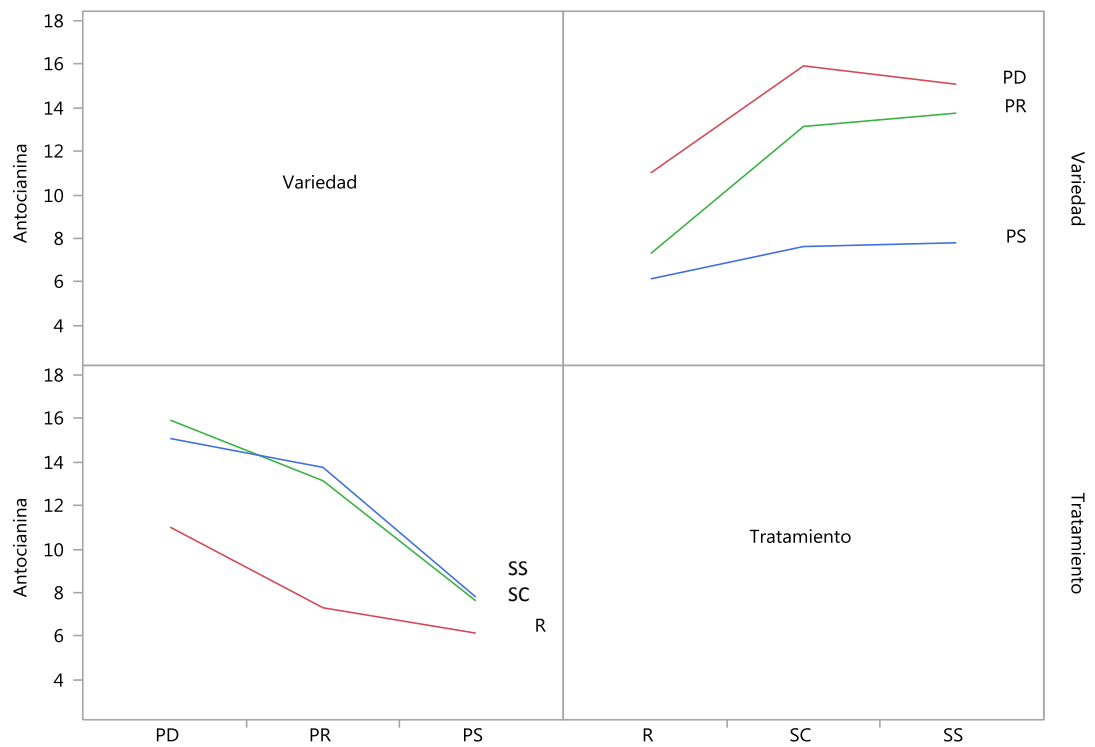
24. Perfil de interacción para contenido de taninos condensados



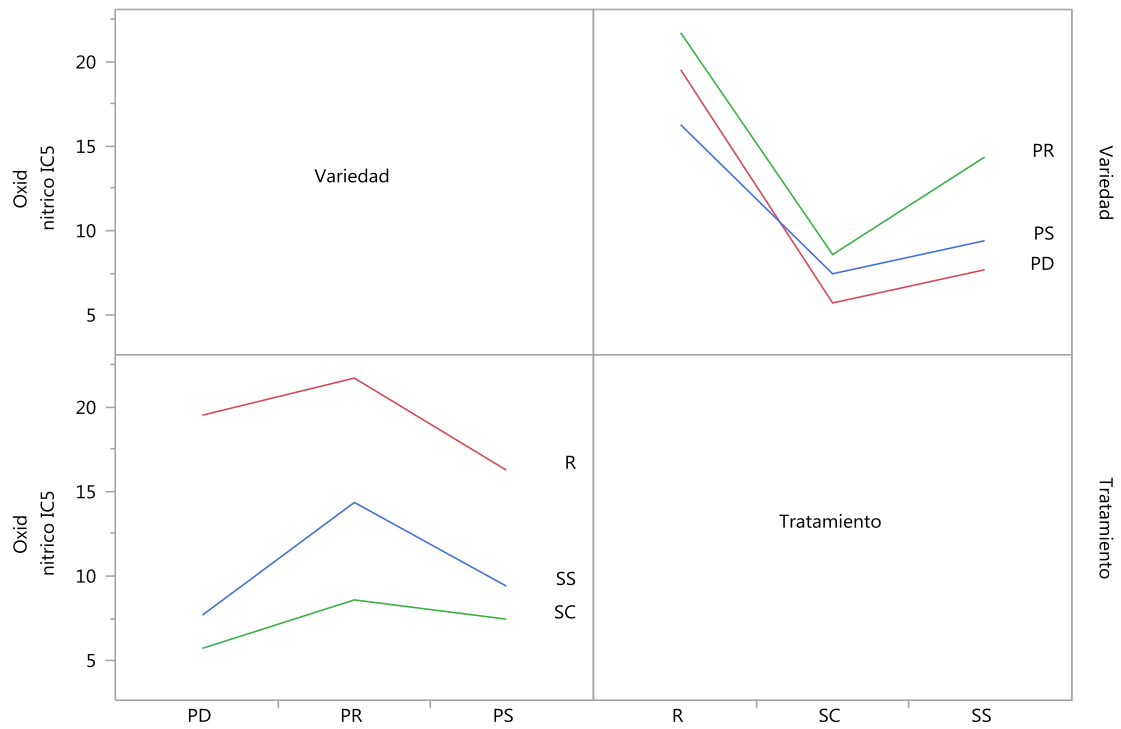
25. Perfil de interacción para contenido de flavonoides



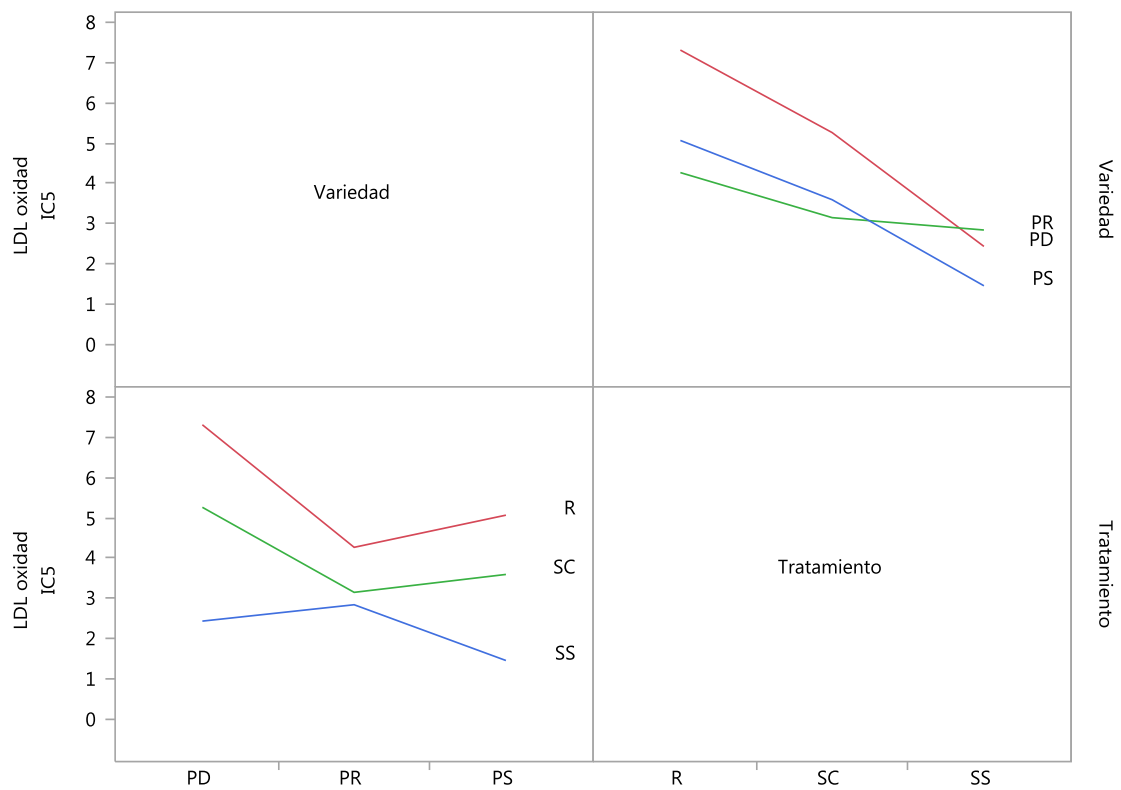
26. Perfil de interacción para contenido de antocianinas



27. Perfil de interacción para óxido nítrico



28. Perfil de interacción para LDL oxidada



IV. Bibliografía

- Abdel-Aal E-SM., Hucl P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheat. *Cereal Chem* 76:350-354.
- Acosta G., J.A. 1994. Challenges in common bean research for biotechnology approaches. Perspectives from national programs: México. *Phaseollus Bean Advanced Biotechnology Reserch Network*, CIAT, Cali, Colombia. Pp: 12-22.
- Acosta G., J.A.; Kohashi, S.J. 1989. Effect of water stress on growth and yield of indeterminate dry-bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. *Field Crops Res.* 20: 81-93.
- Aguilar B., G.; Peña V., C.B.; García N., J.R.; Ramírez V., P.; Banedicto V., S.G.; Molina G., J.D. 2012. Rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en relación con la concentración de vermicomposta y déficit de humedad en el sustrato. *Agrocien.* 46: 37-50.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis. 13th ed. American Organization. Washington, DC. USA. 730 p.
- AOAC. 2000 Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists International: Arlington, VA.
- Apak, R.; Glücü, K.; Özyürek, M.; Esin-Karademir, S. 2004. Novel antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E. using their Cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRA method. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7970-7981.
- Aparicio F., X.O.; Manzo B., L.; Loarca P., G.F. 2005. Comparison of antimutagenic activity of phenolic compounds in newly harvested and storage common beans *Phaseolus vulgaris* against aflatoxins B₁. *J. Food Sci.* 70: 73-78.
- Auroma, O.I. 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plan foods. *Mutat. Res.* 523: 9-20.
- Ávila M., M.R.; Espinosa A., J.J; González R., H.; Rosales S., R.; Pajarito R., A.; Zandarte H., R. 2011. Caracterización de los productores, adopción e impacto económico del uso de la variedad de frijol "Pinto Saltillo" en el norte centro de México. *Rev. Mex. de Agronegocios.* 15: 682-692.
- Beaver, J.S.; Osorno, J.M. 2009. Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional can molecular approaches. *Euphytica.* 168: 145-175.

- Bennink, M.; Rondini, E. 2008. Dry beans and human health, an overview of the status of the science on dry beans and human health. The Bean Institute. 90-12 p.
- Beebe, S.; González, A.V.; Rengifo, J. 2000. Research on trace minerals in the common bean. *Food and Nutr. Bulletin*. 21:387-391.
- Bernardo C., A.M.; Acosta G., J.A.; Salinas P., R.A.; Guzmán M., S.H. 2009. Moisture availability and cooking effects on phenolics and oligosaccharides content in bean seed. *Annual report of the BIC*. 52: 28-29.
- Blanco, M.; Corrales, C.; Chávez, O.; Campos, A., 1995. El crecimiento y rendimiento del frijol común (*Phaseolus Vulgaris* L.) como cultivo intercalado con café (*Coffea arabica* L.). *Agronomía mesoamericana*. 6: 134-139.
- Bray, E.A. 1997. Plant Response to water-deficit. *Trends in Plant Sci*. 2: 48-54.
- Bressani, R. 1983. Research needs to upgrade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods Human Nutr*. 32: 101-110.
- Broughton, W.J.; Hernández, G.; Blair, M.; Beebe, S.; Gepts, P.; Vanderleyden, J. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.) – Model food legumes. *Plant and Soil*. 252: 55-128.
- Castañeda S., M.C.; Córdoba T., L.; González H., V.A.; Delgado A., A.; Santacruz V., A.; García D., G. 2006. Physiological performance, yield, and quality of dry bran seed under drought stress. *Intercien*. 34: 748-754.
- Castellanos, J.Z.; Guzmán M., H.; Acosta G., J.A.; James, D.K. 1995. Effects of hardshell character on cooking time of common beans grown in the semiarid highlands of México. *J. Food Agric*. 69: 437-443.
- Cázares, B.X.; Gómez S., L.; González R., L.; Ruíz M., R. 2010. Obtención de nuevas variedades de frijol tolerantes a sequía en México. *Clar. Agrop*. 199: 40-48.
- Chavez, M.M. 1991. Effects of water deficit on carbon assimilation. *J. Exp. Bot*. 42: 1-16.
- Dalfollo R., N.; Maziero, S.M.; Prigol, M.; Wayne N, C.; Piano R., D.; Flora P., M.T.D. 2012. Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *J. of Food Comp. and Analysis*. 26: 89-95.
- Deshpande S., S.; Cheryan, M. 1985. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. *J. Food Sci*. 50: 905-910.

- Deshpande, S.S.; Cheryan, M.; Salunkhe, D.K. 1986. Tannin analysis of food products. *CRC Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 24:401-449.
- Díaz B., L.; Widholm, J.M.; Fahely J., G.C.; Castaño T., E.; Paredes L., O. 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds. *J.of Agri. and Food Chem.* 54: 2045-2052.
- Disante, K.B.; Fuentes, D.; Cortina, J. 2011. Response to drought of Zn-stressed *Quercus suber* L. seedlings. *Environ Exp Bot.* 70: 96-103.
- Dixon, R.A.; Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell.* 7: 1085-1097.
- Dormann, P.; Benning, C. 2002. Galactolipids rule in seed plants. *Trends in plant science.* 7: 212-218.
- Doubnerová, V.; Ryslavá, H. 2011. What can enzymes fo C₄ photosynthesis do for C₃ plants under stress?. *Plant Science.* 180: 575-583.
- FAO 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations (En línea) (Junio de 2012) disponible en la Web:
http://www.fao.org/agronoticias/agronoticias/detalle/es/?dyna_fef%5Buid%D=121772
- FAO-ISRIC-ITC. Lecture notes of the mayor soil of the World. Rome. 2001. Disponible en la web: www.fao.org/docrep/003/Y1899E/y1899e00.htm
 Fecha de consulta: 18-08-2008 por SEMARNAT.
- Financiera Rural. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectoria. 2011. Monografía del frijol.
- Fischer, S.; Wilckens, R.; Jara, J.; Aranda, M. 2003. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Will) subjected to drought stress. *Industrial crops and production.* 46: 341-349.
- García V., G.; Ramos G., M.; Torres P., I.; Guzmán M., S.H.; Reynoso C., R. 2007. Evaluación del efecto hipoglucemiante y antihiperglicémico de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cocido en ratas diabéticas. *Revista Salud Pública y Nutrición (RESPYN).* Edición Especial 2007. 2do. Congreso Nacional de Química Médica. 6 p.
- Giraldo, B.; Hernández, M.M.; Angulo, P.; Fuertes, C. 2003. Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd. D.C. (Uña de gato). *Rev. Soc. Quím. Perú.* 69 (4): 229-242.
- Guevara L., F.; Espinosa A., L.G.; Valverde, M.E.; Lygin, A.; Widholm, J.; Paredes L., O. 2007. Phenolics, flavonoids and other nutraceuticals in

- Mexican wild common beans (*Phaseolus vulgaris*). American chemical society. In: Hispanic Foods, Washington, DC. 77-78 p.
- González M., E.G.; Martínez R., V.; Castaño T., E.; Loarca P., G. 2003. Effect of drought on polyamine metabolism, yield, protein content and *in vitro* protein digestibility in tepary (*Phaseolus acutifolius*) and common (*Phaseolus vulgaris*) bean seeds. J. of the Sci. of Food and Agri. 83: 1022-1030.
- Graham, P.H.; Vance, C.P. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. Plant Physiol. 131: 872-877.
- Guzmán M., S.H.; Acosta G., J.A.; Álvarez M., M.A.; García D., S.; Loarca P.; G. 2002. Calidad alimentaria y potencial nutracéutico del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Agricultura técnica en Méx. Volumen 28: 159-173.
- Haug, G.H.; Gunther, D.; Peterson, L.C.; Sigman, D.M.; Hughen, K.A.; Aeschlimann, B. 2003. Climate and the collapse of Maya Civilization. Sci. 299: 1731-1735.
- Heil, J.R.; McCarthy, M.J.; Ozilgen, M. 1992. Parameters for predicting canning quality of dry kidney beans. J. Sci. Food Agric. 60: 519-523.
- Hoover, R.; Rorke S., C.; Martin A, M.; 1991. Isolation and characterization of Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) starch. J. Food Biochem. 15: 117-136.
- House, W.A.; Welch, R.M.; Beebe, S.; Chann, Z. 2002. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Sci Food Agric. 82: 1452-1457.
- Horner, J.D. 1990. Nonlinear effects of water deficit on foliar tannin concentration. Biochemical systematic and ecology. 18:211-213.
- Hsu, K.H.; Kim, C.J.; Wilson, L.A. 1983. Factors affecting water uptake of soybean guring soaking. Cereal Chem. 60: 208.
- Hsu, H.W.; Vavak, D.L.; Satterlee, L.D.; Miller, G.A. 2004. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J. of Food Sci. 42: 1269-1273.
- Huerta O., J.A.; León G., M.F.; Ortega C., L.B.; Barrera P., A.; León R., A.; Mendoza H., G.; Barba de la Rosa, A.P. 2010. Water stress induces up-regulation of proteins involved in secondary metabolism in amaranth roots (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Plant Biology. 13: 472-482.
- INEGI 2012. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (En línea) (Agosto de 2012) disponible en la Web:
<http://www.inegi.org.mx/sistemas/sisept/default.aspx?t=mamb177&c=21422&s=est>

- Iniestra-González, J. J., Ibarra-Pérez, F. J., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., 2005. Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrocien.* 39: 603-610.
- Jiménez G., J.C.; Herrera, M.D. 2009. Manejo de siembras con frijol pinto saltillo bajo condiciones de temporal en el noroeste del Estado de Chihuahua. Folleto Científico Núm. 12. CESICH, CIRNOC, INIFAP, SAGARPA. Cd. Cuauhtémoc, Chih.
- Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Food Sci. and Nutr.* 44: 453-464.
- Kigel, J. 1999. Culinary and nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* seeds as affected by environmental factors. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 3: 205-209.
- Kirakosyan, A.; Seymour, E.; Kaufman, P.B.; Warber, S.; Bolling, S.; Chul C., S. 2003. Antioxidant capacity of polyphenolic extracts from leaves of *Crataegus laevigata* and *Crataegus monogyna* (Hawthorn) subjected to drought and cold stress. *Journal of agricultural and food chemistry.* 51: 3973-3976.
- Kokubun M.; Shimada, S.; Takahashi, M. 2001. flower abortion caused by preanthesis wáter is not attributed to impairment of pollen soybean. *Crop Sci.* 41: 1517-1521.
- Kutos, T.; Golob, T.; Kac, M.; Plestenjak, A. 2003. Dietary fiber content of dry and processed beans. *Food Chemisty.* 80: 231-235.
- Lépiz I., R. 2000. Contribución de la Fitopatología al mejoramiento de los cultivos agrícolas, El caso del frijol. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 17: 54-72.
- Lombardi B., G.; De Saints, N.; Di Lullo, G.; Carnovale, E. 1995. Impact of processing on Fe dialysability from bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *Food Chem.* 53: 191-195.
- Loy, S.; Simon, R.; Delgado, R. 2002. Un potencial protector de la peroxidación lipídica en lipoproteínas de baja densidad. *Rev. Cubana Invest. Biomédica;* 21: 3-10.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Remésy, C.; Jiménez, L. 2003. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727-747.
- Manjeru, P.; Madanzi, T.; Makaredza, B.; Nciizah, A.; Sithole, M. 2007. Effects of water stress at different growth stages on components and grain yield of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *African crop Science Conf. Procee.* 8: 299-303.

- Marsolias, F.; Pajak, A.; Yin, F.; Taylor, M.; Gabriel, M.; Merino, D.M.; Ma, V.; Kameka, A.; Vijayan, P.; Pham, H.; Huang, S.; Rivoal, J.; Bett, K.; Hernández S., C.; Liu, Q.; Bertrand, A.; Chapman, R. 2010. Proteomic analysis of common bean seed with storage protein deficiency reveals up-regulation of sulfur-rich proteins and starch and raffinose metabolic enzymes, and down-regulations of the secretory pathway. *J. of proteomics*. 73: 1587-1600.
- Moraghan, J.T. 2004. Accumulation and within-seed distribution of iron in common bean and soybean. *Plant and Soil*. 264: 287-297.
- Moraghan, J.T.; Grafton, K. 2002. Distribution of selected elements between the seed coat and embryo of two black bean cultivars. *J Plant Nutr*. 25: 169-176.
- Moraghan, J.T.; Padilla, J.; Etchevers, J.D.; Grafton, K.; Acosta G., J.A. 2002. Iron accumulation in seed of common bean. *Plant and soil*. 246: 175-183.
- Moreno F., L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Col*. 27: 179-191.
- Muzquiz M.; Burbano, C.; Ayet, G.; Pedrosa, M.M.; Cuadrado, C. 1999. The investigation of antinutritional factors in *Phaseolus vulgaris*. Environmental and varietal differences. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. Volumen 3:210-216.
- Natarajan, S.; Xu, C.; Capema, T.J.; Garret, W.M. 2006. Comparison of protein solubilization methods suitable for proteomic analysis of soybean seed proteins. *Anal. Biochem*. 342: 214-220.
- Núñez, B.A.; Hoogenboom, G.; Nesmith, D.S. 2005. Drought stress and distribution of vegetative and reproductive traits of a bean cultivar. *Sci. Agric*. 62: 18-22.
- Oboh, H.A.; Sedivy, J.M. 2002. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol. Life Sci*. 59: 126-142.
- Paredes L., O.; Valverde, M.E. 2006. Los recursos nutraceuticos y medicinales que Mesoamérica le ha dado al mundo. Avance y perspectiva (CINVESTAV). 25: 67-73.
- Park, J.; Folch, M.H. 2007. Prebiotics, probiotics and dietary fiber in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Clin N*. 36: 47-63.
- Pasin, N.H.; Filho, S., B.G.; Dos-Santos, D.S.B. 1991. Performance of bean seed derived from plants subjected to water stress at two growth stages. *Pesqui. Agropecu. Bras*. 26: 183-192.

- Pérez H., P.; Acosta D., E.; Padilla R., S.; Acosta G., J. 1999. Efecto de la sequía en la calidad de la semilla de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Agricultura técnica en México. 25: 107-114.
- Piergiovanni, A.R.; Pignone, D. 2003. Effect of year-to-year variation and genotype on trypsin inhibitor level in common bean (*Phaseolus vulgaris* L) seeds. J. of the Sci. of Food and Agriculture. 83: 473-476.
- Porter, J.D.; Bawart, W.L.; Hassett, J.J. 1986. Phenolic acids and flavonoidas in soybean root and leaf extracts. Environm. Exp. Botany. 26: 65-79.
- Prosky, L.; Asp, N.G.; Schweizer, T.F.; DeVries, J.W.; Furda, I. 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study.
- Ramamurthy, M.S.; Maiti, B.; Thomas, P.; Nair, P.M. 1992. High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. J. Agric. Food Chem. 40: 569-572.
- Randhir, R.; Shetty, K. 2004. Microwave-induced stimulation of L-DOPA, phenolics and antioxidant activity in fava bean (*Vicia faba*) for Parkinson's diet. Process biochemistry. 39:1775-1784.
- Reynoso C., R.; Ramos G., M.; Loarca P., G. 2006. Bioactive components in comun beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Advances in agricultural and food biotechnology. Research Singpost. Kerala, India. 218 p.
- Reyes M., C.; Paredes L., O. 1993. Hard to cook phenomenon in common beans- A review. Critical reviews in food science and nutrition. 3:227-286.
- Ríos U., M.C.; Reynoco C., R.; I, Torres P.; Acosta G., J.A.; Palomino S., C.; Ramos G., M.; González J., E.; Guzmán M., S.H. 2006. Effect of common bean (*Phaseolus vulgaris*) consumption on colon cáncer in Spargue-Dawley rats. Annual report of BIC. 49: 123-124.
- Rivera L., J.; Ordonica F., C.; Wesche E., P. 1999. Changes in anthocyanin concentration in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) perocarp during maturation. Food Chem. 65: 195-200.
- Rosales S., R.; J. A. Acosta G.; F. J. Ibarra P.; E. I. Cuéllar R. y C. A. Nava B. 2009. Validación de variedades y líneas mejoradas de frijol en Durango. Publicación Especial Núm. 27. Campo Experimental Valle de Guadiana, CIRNOC, INIFAP, SAGARPA. Durango. Durango, México. 93 p.
- Sardans, J.; Penuelas, J.; Prieto, P.; Estiarte, M. 2008. Changes in Ca, Fe, Mg, Mo, Na and S content in a Mediterranean shrubland under warming and drought. j. Geophys Res. 13: 1-11.

- Saura C., F.; Goñi, I.; Bravo, L.; Mañas, E. 1993. Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. *J. Food Sci.* 58: 642-643.
- Saydelles, S.; Darfollo R., N.; Jost, E.; Silveira R., L.R.; Piano R., D.; Cerutti, T.; Flora P., M.T.D. 2010. Potential for increasing the zinc content in common bean using genetic improvement. *Euphytica.* 175: 2017-2013.
- Serrano, J.; Goñi, I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. *Arch Latinoam. Nutr.* 54: 36-44.
- SIAP-SAGARPA. 2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (En línea) disponible en la Web: <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado en Enero de 2011.
- SIAP 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (En línea) (Junio de 2012) disponible en la Web: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
- Singh, S.; Gupta, A.K.; Kaur, N. 2012. Influence of drought and sowing time on protein composition, antinutrients, and mineral contents of wheat. *The Scientific World Journal.* 2012: 1-9.
- Stanley, D.W.; Michaels, T.E.; Plhak, L.C.; Caldwell, K.B. 1990. Sotrage-induced hardening in 20 common beans cultivars. *J. Food Qual.* 13: 233.
- Szilagyi, L. 2003. Influence of drought on seed components in common vean. *Bulg. J. Plant Physiol.*, 2003: 320-330.
- Tofiño, A.; Romero, H.M.; Ceballos, H. 2007. Efecto del estrés abiótico sobre la síntesis y degradación de almidón. Una revisión. *Agron. Colomb.* 25: 247-254.
- Torres Franklin, M.L.; Gigon, A.; Fernández de Melo, D.; Zuily F., Y. 2007. Drought stress and rehydration affect the balance between MGDG and DGDG synthesis in cowpea leaves. *Physiologia plantarum.* 131: 201-210.
- Ventura R., J.; Acosta G., J.A. 2008. El sistema Aqueel para la captación de agua de lluvia en frijol de temporal. Libro técnico Núm. 4: Tecnología para la producción de frijol en el norte centro de México. Campo Experimental San Luis, CIRNE, INIFAP, SAGARPA. Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México. 93 p.
- Vergara C., H.A. 2011. Efecto de la fracción no digerible del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocido variedad Bayo Madero, sobre el estadio

temprano de cáncer de colon. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro.

- Vorosmarty, C.J.; Green, P.; Salisbury, J.; Lammers, R.B. 2000. Global water resources: vulnerability from climate change and population growth. *Sci.* 289: 284-288.
- Wang, N.; D. James K. 2005. Determination of cooking times of pulses using an automated Mattson cooker apparatus. *J. of the Sci. of Food and Agriculture* 85:1631-1635.
- Weidner, S.; Karolak, M.; Karamac, M.; Kosinska, A.; Amarowicz, R. 2009. Phenolic compounds and properties of antioxidants in grapevine roots (*Vitis vinifera* L.) under drought stress followed by recovery. *Acta Soc. Bot. Polon.* 78:97-103.
- Welch, R.M.; House, W.A.; Beebe, S.; Cheng, Z. 2000. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3576-3580.
- Welch, R.M.; House, W.A.; Senadhira, D.; Gregorio, G.B.; Cheng, Z. 2000. Testing iron and zinc bioavailability in genetically enriched beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and rice (*Oryza sativa* L.) in a rat model. *Food and Nutrit. Bulletin.* 21: 428-433.
- Xu, B.J.; Chang, S.K.C. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *JFSs: Sensory and Nutritive Qualities of Food.* 2: 159-166.
- Yang, J.; Zhang, J.; Wang, Z.; Liu, L. 2006. Abscisic acid and ethylene interact in wheat grains in response to soil drying during grain filling. *New Phytol.* 171: 293-303.
- Yang, J.; Zhang, J.; Wang, Z.; Zhu, Q. 2001. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J. of Exper. Botany.* 52: 2169-2179.
- Yocota, A.; Kawasaki, S.; Iwano, M.; Nakamura, C.; Miyake, C.; Akashi, K. 2002. Citrulline and DRIP-1 protein (ArgE Homologue) in drought tolerance of wild watermelon. *Ann Bot.* 89:825-832.
- Yordanov, I.; Velikova, V.; Tsonev, T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance, *Photosynthetica.* 38: 171-186.
- Yordanov, I.; Velikova, V.; Tsonev, T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulg. J. Plant Physiol.* 2003: 187-206.
- Zlatev, A.S.; Yordanov, I.T. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30: 3-18.

Ze Lin, L.; Harnly, J.M.; Pastor C., M.S.; Lithria, D.L. 2007 The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chem. 107: 399-410.