



INGENIERÍA AGRONÓMICA

Trabajo Final de Carrera:

“Cultivo de porotos como fuente de proteína alternativa para la alimentación humana y animal”

Alumna: Paula Manuela Aramburú.

Directora: Dra. María Fany Zubillaga.

Co-directora: Dra. María Lucrecia Piñuel.

Año: 2022.

A Luchi

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Río Negro por darme la oportunidad de estudiar y convertirme en una profesional.

A María Fany Zubillaga, mi directora de tesis, y María Lucrecia Piñuel, mi co-directora, por transmitirme sus conocimientos, guiarme en el proceso de la tesis, y por brindarme su paciencia y dedicación.

Al Consejo Interuniversitario Nacional por la beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas otorgada en el año 2021 que facilitó el desarrollo de las actividades de este trabajo.

A la Estación Experimental Valle Inferior de Río Negro (EEAVI-INTA), por permitir la realización de este trabajo en sus instalaciones y, especialmente, a Juan José Gallego y al grupo de producción animal por su acompañamiento y ayuda en las tareas de campo.

A Sergio Quichán, por su colaboración en la realización de los análisis de proteínas.

Al laboratorio de investigación N°3, Laboratorio de Tecnología de Alimentos y Biotecnología de la Universidad Nacional de Río Negro por facilitar el equipamiento necesario para llevar a cabo este trabajo.

Finalmente, quiero agradecer a mis amigos, familia y compañeros, por su ayuda incondicional, motivación y confianza brindada durante estos años.

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract	6
Introducción	7
Descripción de la especie	7
Cultivo de porotos en el Valle Inferior de Río Negro	9
Calidad nutricional de la especie	11
Hipótesis	14
Objetivos	14
Metodología	15
Localización	15
1. Metodología implementada en el ensayo a campo	16
2. Metodología implementada en ensayos de laboratorio	20
Análisis estadístico	22
Resultados y discusión	23
Ensayos realizados a campo	23
1. Evaluación de fechas de siembra en diferentes materiales genéticos	23
2. Rendimiento	24
Ensayos realizados en laboratorio	28
1. Evaluación de la germinación en las variedades de P. vulgaris estudiadas	28
2. Atributos de calidad para las variedades de P vulgaris estudiadas	30
2.1 Contenido de Proteína total	30
2.2 Determinación de proteínas solubles	31
2.3 Caracterización fisicoquímica de extractos proteicos	33
2.4 Determinación de lectinas por hemoaglutinación	36
2.5 Determinación de polifenoles	37
2.6 Determinación de ácido fítico	38
Conclusiones	41
Bibliografía	42

Resumen

Las legumbres son cultivos destacados por su calidad nutricional, principalmente por su elevado contenido de proteínas. Su consumo favorece diversos procesos del organismo tales como: la digestión, la reducción de glucosa en sangre, la disminución del colesterol, prevención de diabetes, enfermedades cardíacas y obesidad. La producción de *Phaseolus* en el VIRN está destinada principalmente a huertas familiares sin embargo, ensayos experimentales han demostrado resultados prometedores para esta producción en superficies mayores con rendimientos productivos equiparables o superiores a los publicados en el noroeste argentino.

Este trabajo presenta dos instancias de investigación, la primera fue realizada a campo, y en ella se evaluaron diferentes fechas de siembra y materiales genéticos con el objetivo de identificar el/los materiales con mejor adaptabilidad y productividad en la zona de estudio. La segunda instancia consistió en ensayos realizados en condiciones controladas de laboratorio. Allí se evaluaron diferentes tiempos de la germinación de los materiales identificados en la etapa de campo y sus atributos de calidad nutricional.

Entre los resultados más importantes se puede destacar mediados de noviembre como fecha óptima de siembra, debido a los mayores rendimientos productivos obtenidos en los materiales evaluados. Las variedades más fructíferas fueron Cranberry y Red Park.

Entre los atributos de calidad se destacó un incremento del contenido de proteínas totales con tiempos de germinación más prolongados, mientras que las proteínas solubles no presentaron diferencias asociadas a esta técnica. La caracterización fisicoquímica demostró la presencia de vicilinas, phaseolinas y lectinas, proteínas que suelen estar relacionadas a efectos alérgenos de las legumbres, sin embargo las mismas disminuyeron con el tiempo de germinación.

Por otra parte, las lectinas presentes en los porotos suelen identificarse como compuestos antinutricionales debido a sus efectos adversos relacionados a alergias y reducción de la absorción de nutrientes entre otros. En este sentido, la germinación demostró una disminución en el contenido de estas proteínas. Por último, los polifenoles y el ácido fítico presentaron una tendencia a incrementar con los tiempos de germinación, estos aumentos podrían ser considerados benéficos desde el punto de vista de sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas.

De esta manera, este trabajo deja en evidencia que el cultivo de *Phaseolus vulgaris*

resulta una alternativa de diversificación productiva viable a nivel local para uso humano y animal. Además, el proceso germinativo de porotos, permite mejorar la calidad nutricional de los mismos.

Palabras claves: *Phaseolus*, rendimiento, germinación, proteínas, polifenoles, lectinas, ácido fítico.

Abstract

Legumes are crops that stand out for their nutritional quality, mainly for their high protein content. Moreover, their consumption favors various processes in the organism such as: digestion, reduction of blood glucose, cholesterol reduction, prevention of diabetes, heart disease and obesity (Ministry of Agriculture, Livestock and Fisheries, 2021). Phaseolus production in the VIRN is mainly intended for family gardens; however, experimental trials have shown promising results for this production in larger areas with productive yields comparable or higher than those published in northwestern Argentina.

This work presents two instances of research, the first was carried out in the field, where different sowing dates and genetic materials were evaluated with the objective of identifying the material(s) with the best adaptability and productivity in the study area. The second stage consisted of trials carried out under controlled laboratory conditions. There, different germination times of the materials identified in the field stage and their nutritional quality attributes were evaluated.

Among the most important results, the optimum sowing date was mid-November, due to the higher yields obtained in the materials evaluated. The most fruitful varieties were Cranberry and Red Park.

Among the quality attributes, an increase in total protein content with longer germination times was noted, while soluble proteins showed no differences associated with this technique. The physicochemical characterization showed the presence of vicillins, phaseolins and lectins, proteins that are usually related to allergenic effects of legumes; however, they decreased with germination time.

On the other hand, lectins present in beans are usually identified as anti-nutritional compounds due to their adverse effects related to allergies and reduction of nutrient absorption, among others. In this sense, germination showed a decrease in the hemoagglutinating activity of this component. Finally, polyphenols and phytic acid showed a tendency to increase with germination times; these increases could be considered beneficial from the point of view of their antioxidant and anticarcinogenic properties.

Thus, this work shows how the cultivation of *Phaseolus vulgaris* is a viable productive diversification alternative at the local level for human and animal use.

Key words: Phaseolus, yield, germination, proteins, polyphenols, lectins, phytic acid.

Introducción

En Argentina, la producción de legumbres alcanzó en la campaña 2020/21 alrededor de 1.052.695 tn. El poroto es la legumbre, excluida la soja, que más se produce en nuestro país. Su producción se centra principalmente en áreas del noroeste argentino, destacándose en superficie productiva la provincia de Salta. En la campaña 2020/21 se estima que alcanzó alrededor de 754 mil toneladas (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

Las principales variedades producidas en nuestro país son el poroto blanco (alubia) y el poroto negro. Durante la campaña 2020/21 el 38% de la superficie sembrada correspondió al poroto alubia, el 40% al poroto negro y el porcentaje restante a variedades de menor relevancia (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021). En nuestro país las legumbres tienen un bajo valor de consumo, ubicándose entre 800 gr/hab/año mientras que a nivel mundial la cifra ronda los 8 kg/hab/año. Este escaso volumen de demanda se debe principalmente a cuestiones de índole cultural (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

Las lentejas son las legumbres más consumidas por los argentinos, seguidas de las arvejas, porotos y garbanzos. En los últimos años, se observó un incremento en la demanda de las mismas y se prevé que a futuro continúe esta tendencia. Acorde al incremento observado en la demanda, se presentó una respuesta positiva en la producción del país, que resultó un 1,11% superior para el ciclo 2020/21 en relación al ciclo anterior (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

En cuanto al mercado interno de las legumbres, nuestro país demanda 36.000 tn totales al año, con posibilidades de expansión. Por su parte, el mercado externo presenta un fuerte sesgo exportador en el cual alrededor del 60% de lo producido es comercializado, con variaciones según la especie. Durante el último quinquenio se exportaron en promedio unas 618 mil tn/año (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

Descripción de la especie

Los porotos son plantas anuales, herbáceas, con raíz principal profunda y pivotante, y gran número de raíces secundarias. La misma puede presentar nódulos característicos de la familia de las leguminosas, que contienen bacterias del género

Rhizobium. Su tallo es cilíndrico o levemente angular y posee dos tipos de hojas, las simples, correspondientes a las hojas primarias de inserción opuesta; de borde entero, unifoliadas y, las compuestas, que se caracterizan por ser trifoliadas y alternas. Las inflorescencias se presentan en racimos de 4 a 8 flores con colores variables entre el blanco y el morado. Su fruto es una legumbre que tiene distintas formas, tamaños, colores, textura y número de semillas, dependiendo de la variedad. La semilla está constituida básicamente por el embrión y el tegumento y sus colores pueden ser variados (Enciso *et al.*, 2019).

El desarrollo de la planta comprende dos fases sucesivas: la vegetativa, que se inicia luego de la germinación y culmina en el momento en el que aparecen los primeros botones florales, y la reproductiva, que inicia con los botones florales y termina al momento en que los granos alcanzan el grado de madurez de cosecha (Fernández, 1986). En la figura 1 se pueden observar los diferentes estadios de crecimiento de la planta de poroto.

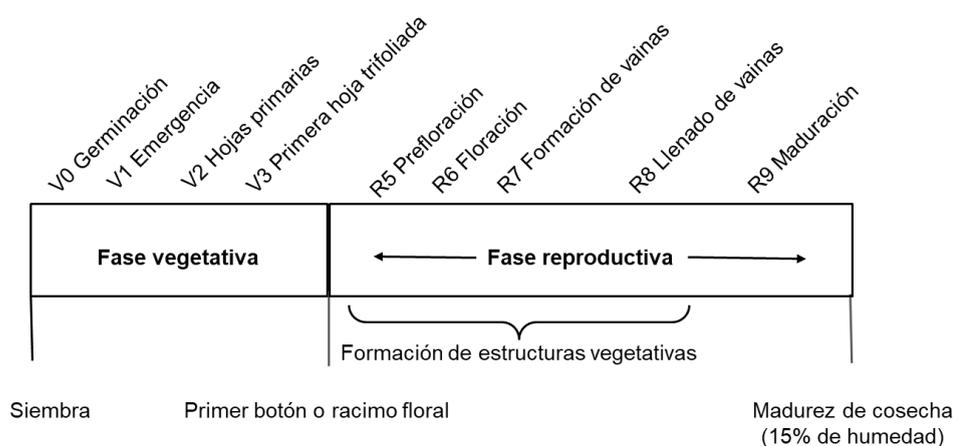


Figura 1: Etapas fenológicas del cultivo de poroto. Adaptado de: Fernández, 1986.

Las legumbres presentan un ciclo vegetativo que varía entre 80 y 180 días, lapso determinado por el genotipo de la variedad, hábito de crecimiento, clima, suelo, radiación solar y fotoperiodo (Reyes *et al.*, 2008).

Básicamente, los porotos son cultivos de clima templado y cálido, donde el óptimo de su temperatura está entre 18 y 21°C (Pinchi, 2009), con una mínima mensual media óptima de 10°C y la máxima de 28°C. Las temperaturas por encima de 35°C y por debajo de 10°C, influyen negativamente en el cuajado de los frutos (Reginatto, 2018). El

poroto es una especie termófila, es decir que no soporta las heladas y su ciclo vegetativo aumenta a medida que la temperatura disminuye. Cuando el periodo de temperaturas mínimas difiere del óptimo, la planta emite muchas ramas en detrimento de la producción de granos (Enciso *et al.*, 2019).

Los porotos son considerados especies poco tolerantes al estrés hídrico, su período crítico se ubica durante la fase de floración y llenado del grano. El estrés provoca una reducción del número de flores y aborto de óvulos. Por otro lado, el exceso de agua condiciona la disponibilidad de oxígeno a nivel radicular lo que genera muerte de plantas si el periodo de anoxia es prolongado (Reginatto, 2018). En este sentido, se consideran láminas de agua óptimas para todo el ciclo del cultivo aquellas entre 500 y 700 mm (Espinoza, 2009).

En relación al tipo de suelo, los porotos producen mejor en terrenos sueltos, profundos, aireados, con buen drenaje y resultan altamente sensibles a la salinidad (De Simone & Failde de Calvo, 2002; Espinoza, 2009; Reginatto, 2018).

Nutricionalmente es un cultivo que requiere adecuada disponibilidad en el suelo de potasio, calcio, zinc, manganeso, hierro y molibdeno. Asimismo, es exigente en nitrógeno pero su deficiencia no genera limitaciones evidentes debido a su capacidad de fijarlo del aire a través de la simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* (Ortega *et al.*, 2008). En cuanto al pH, se adapta a suelos moderadamente ácidos a neutros con valores entre 5,5 y 7,2 (Reginatto, 2018).

Por último, el cultivo antecesor es importante a la hora de elegir la parcela en la cual se realizará el cultivo. La siembra en años consecutivos del mismo cultivo puede generar deterioro del suelo por reducción en el porcentaje de materia orgánica, cambios en la estructura, y aumentos en el inóculo de enfermedades como *Sclerotinia* y *Bacteriosis*. La rotación con gramíneas, y en especial con maíz, suele recomendarse para eliminar los inóculos de enfermedades fúngicas del suelo como: *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Bacteriosis*. Además mejora la estructura del suelo y permite controlar el ciclo de algunas malezas (Reginatto, 2018)

Cultivo de porotos en el Valle Inferior de Río Negro

El Valle Inferior de Río Negro (VIRN), las actividades productivas más destacadas son el cultivo de forrajeras en primer lugar, seguido por la producción

frutícola, de cereales y de hortalizas. Esta diversidad de producciones puede llevarse a cabo debido a las condiciones ambientales, a la disponibilidad del recurso hídrico y a la gran variabilidad de series de suelo con diferentes clases texturales presentes en la zona (Masotta, 1970; Seba *et al.*, 2017). En lo que respecta a la producción de legumbres, las mismas se cultivan en pequeñas superficies destinadas a huertas familiares sin embargo, ensayos de variedades de porotos realizados en forma experimental mostraron resultados prometedores para esta producción en superficies mayores (Martinez *et al.*, 1996). En el año 2018 se evaluaron diferentes materiales genéticos de porotos: Manteca (*Phaseolus lanatus* L); Red Park, Cranberry, Poroto Negro (*Phaseolus vulgaris* L); Adzuki (*Vigna angularis*) y Mungo (*Vigna radiata*) provenientes de Salta. Adzuki y Manteca no se adaptaron al sitio de estudio mientras que los restantes materiales presentaron un adecuado desarrollo con rendimientos productivos equiparables o superiores a los publicados en diferentes localidades del Noroeste argentino (Zubillaga *et al.*, 2020). En relación al contenido de proteínas, los valores obtenidos variaron entre 20-23%. Estos valores coinciden con los descritos por el Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca, y resultan superiores a los valores publicados (18-22%) en un ensayo comparativo de especies en el norte argentino (Sammán *et al.*, 1999).

La actividad ganadera en el VIRN se centra en el engorde de vacunos y ovinos en pasturas irrigadas. Sin embargo, los granos representan un componente fundamental en la alimentación animal de la región por su elevado contenido de energía y proteínas. Estos permiten la terminación comercial de animales en cualquier época del año, aunque representan el mayor componente del costo de alimentación del ganado (Bolla *et al.*, 2018). En este sentido, el incremento de la producción regional de carne está ligado estrechamente a la producción de granos en cercanías, de manera de reducir los costos de fletes. En términos de producción se intenta cubrir esta demanda a través del incremento de las áreas destinadas al cultivo de maíz, pero aún no se logran los rendimientos por hectárea necesarios. Existen otros tipos de granos como avena y cebada que reúnen características similares al maíz y que pueden reemplazarlo, pero en costos resultan similares (FAO, 2015). Por lo antes mencionado, las legumbres podrían ser una alternativa energético-proteica para la alimentación animal. Las mismas han sido utilizadas en diferentes partes del mundo con destacados resultados productivos (Dixon & Hosking, 1992; Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.*, 2018).

Calidad nutricional de la especie

Estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado la relación entre la dieta y el estado de salud, por lo tanto, cualquier individuo puede ejercer un significativo nivel de control de su salud en virtud de las decisiones que tome en relación a su dieta. En este sentido gran parte de las poblaciones en el mundo han optado por consumir alimentos o componentes de alimentos que proporcionan beneficios que van más allá de su valor nutritivo básico, dado que promueven la salud y disminuyen el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles. Estos alimentos reciben el nombre de funcionales (Cortes et al., 2005). En este sentido, es importante destacar las cualidades saludables y nutricionales de las legumbres que se caracterizan por su elevado contenido proteico, aunque de amplia variabilidad (20-50%) según la especie, genotipo y condiciones medioambientales de cultivo. Generalmente, en las legumbres la fracción proteica más abundante corresponde a las globulinas, solubles en soluciones salinas y relativamente pobres en aminoácidos azufrados aunque con contenidos de lisina muy superiores al de los granos de los cereales. Debido a ello, leguminosas y cereales se complementan en el aporte proteico y de aminoácidos secundarios limitantes tales como, treonina en los cereales y triptófano en las legumbres. Las deficiencias de aminoácidos esenciales tradicionalmente se han superado incluyendo las legumbres en platos que contienen cereales. Por otra parte, las legumbres como los porotos, se consideran excelentes fuentes de almidón de digestión y asimilación lenta (Martinez, 2019), además de proveer vitaminas y fructooligosacáridos que protegen al cuerpo del estrés oxidativo, las enfermedades cardíacas, la diabetes, el cáncer y el síndrome metabólico (Oomah et al., 2010). Además, para la FAO las legumbres favorecen diversos procesos del organismo tales como: mejoran la digestión, reducen la glucosa en sangre, bajan el colesterol, previenen la diabetes, enfermedades cardíacas y la obesidad (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021). Los efectos fisiológicos beneficiosos podrían deberse a la presencia de compuestos fenólicos destacados por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas, anticancerígenas y antibacterianas (Herrera Rodríguez, 2016).

Si bien, las legumbres tienen un gran potencial como fuente de proteínas vegetales, parte de las mismas son indigeribles debido a la interacción con otros componentes como, inhibidores de tripsina, lectinas y fitatos entre otros (Becker & Yu, 2013). Estos compuestos son considerados factores antinutricionales y su contenido

depende del tipo de legumbre. Las lectinas representan entre el 2-10% de la proteína total de una legumbre seca. Son glicoproteínas que poseen una alta selectividad hacia los carbohidratos y presentan por lo menos dos sitios de reconocimiento de estas estructuras. Esta particularidad les permite aglutinar glóbulos rojos, precipitar glicoconjugados y ofrecer resistencia a la proteólisis. A su vez, las lectinas no tienen actividad enzimática y algunas de ellas, pueden ser producto de una respuesta inmune (López & Rosas, 2014). Por otra parte, se las suele describir como componentes antinutricionales debido a sus efectos adversos, los cuales están relacionados con efectos alérgicos, reducción del crecimiento y pérdida de peso. Este efecto se genera por su unión a receptores específicos de las células de la mucosa intestinal, y tracto digestivo en general, que reduce la absorción de nutrientes y productos de la digestión en el intestino delgado (Aguilera Gutierrez, 2010; Poblete et al., 2020).

Respecto del ácido fítico, este tiene la particularidad de formar complejos estables con minerales como el zinc, el magnesio, el calcio y el hierro que impiden posteriormente su absorción en el tracto intestinal, dando lugar a síntomas gastrointestinales como náuseas y diarrea (Poblete et al., 2020). Así mismo, se encuentra documentado el desarrollo de fuertes interacciones con proteínas, carbohidratos y lípidos (Kumar et al., 2010).

La búsqueda para mejorar la accesibilidad a las proteínas se ha convertido en un objetivo para fomentar el consumo de legumbres. Por este motivo se han desarrollado múltiples metodologías tales como germinados, obtención de brotes, descascarillado, remojo, cocción, tostado, autoclavado y fermentación entre otras, para disminuir o eliminar estos factores no nutritivos con el mínimo deterioro y/o pérdida de nutrientes (Nkhata et al., 2018). En este sentido, el proceso de germinación se caracteriza por desencadenar la digestión parcial de las proteínas de reserva de la semilla, y esto se traduce en una mayor digestibilidad y valor nutritivo cuando los germinados son consumidos por los seres humanos (Ohanenye et al., 2020). De este modo, se ha informado correlaciones positivas entre el contenido de proteína de la semilla y el proceso de germinación de la misma (Wahid & Bounoua, 2013). Estudios recientes han demostrado un aumento en la solubilidad de proteínas en *Phaseolus vulgaris* con el incremento del tiempo de germinación (Xue et al., 2016; Winarsi et al., 2020).

A partir de los requerimientos del cultivo antes expuestos y de la experiencia local, se puede considerar que las condiciones edafoclimáticas del Valle de Viedma son adecuadas para el óptimo desarrollo de porotos. En este sentido, su producción podría

visualizarse como una nueva alternativa de diversificación de calidad nutricional para la alimentación humana y/o animal. Por ello, se evaluó el comportamiento de diferentes materiales genéticos producidos en el noroeste de nuestro país en diferentes fechas de siembra bajo las condiciones medioambientales del VIRN. De los resultados obtenidos se seleccionaron los materiales con mayor rendimiento productivo y se analizó el efecto de la germinación en la calidad nutricional de los mismos

Hipótesis

La elección de la fecha de siembra incide en la productividad del cultivo realizado en el VIRN, por efecto de las condiciones medioambientales en la fenología del mismo. A su vez, el proceso de germinación mejora la calidad y aprovechamiento nutritivo del grano posicionándolo como una alternativa de diversificación productiva para la alimentación humana y animal.

Objetivos

- Evaluar diferentes fechas de siembra para definir el periodo óptimo donde las condiciones de temperatura y fotoperiodo sean adecuadas para el desarrollo del cultivo en el VIRN.
- Evaluar en los materiales genéticos más productivos el efecto de diferentes tiempos de germinación sobre parámetros asociados a calidad nutricional de los mismos.

Metodología

Localización

El presente trabajo fue realizado en el VIRN, el mismo se encuentra ubicado sobre la margen sur del Río Negro partiendo desde Primera Angostura hasta la desembocadura del Océano Atlántico. Abarca alrededor de 80.000 ha, de las cuales 35.000 ha son irrigadas. Su centro urbano es la ciudad de Viedma.

Esta región se caracteriza por presentar suelos de textura fina a media con un relieve suavemente ondulado con cordones salinos que ocasionalmente superan los dos metros de altura. Los tipos de suelo más representativos son los molisoles, entisoles y vertisoles. La zona agrícola bajo riego del VIRN se encuentra localizada en el denominado proyecto Instituto de Desarrollo del Valle Inferior (IDEVI), que corresponde a un área de 18.500 ha sistematizada para el riego superficial y organizada en explotaciones cuya superficie varía entre las 30 y 120 ha (Musi Saluj, 2018).

El clima es semiárido, mesotermal, sin periodo de exceso de agua durante el año. La precipitación media anual es de 394.2 mm, con una distribución casi homogénea a lo largo del año. Durante el período de primavera-verano, las precipitaciones pueden considerarse de distribución irregular y deficitaria para los cultivos. Durante el otoño-invierno las lluvias se producen con mayor regularidad y debido a las menores temperaturas, a la mayor humedad relativa y a la presencia de vientos moderados, los requerimientos hídricos de la mayoría de los cultivos invernales generalmente son cubiertos (Musi & Saluj, 2018).

El promedio anual de las temperaturas medias mensuales es de 14,1 °C, con un régimen térmico moderado por el efecto marítimo. La amplitud térmica que presenta permite el adecuado crecimiento y desarrollo de la mayoría de los cultivos subtropicales.

En cuanto a la humedad relativa, los valores más altos se registran durante los meses de invierno. La estación primavero-estival se caracteriza por su baja humedad relativa, aunque es frecuente la aparición de condiciones de alta humedad en las primeras horas de la mañana y las últimas de la tarde, cuando las temperaturas son menores. El período libre de heladas es de 164 días y las fechas medias de primera y última helada son el 1° de mayo y el 12 de octubre respectivamente (Musi & Saluj, 2018).

La región se destaca por la presencia de viento durante todo el año, con velocidades que varían desde rangos moderados, hasta regulares, fuertes y muy fuertes

en determinadas épocas del mismo. De octubre a febrero se registran los vientos de mayor intensidad, de marzo a junio los de menor intensidad y los intermedios durante los meses de agosto y septiembre.

En términos generales, las condiciones benignas del clima sumadas a la abundancia y calidad del agua para riego, hacen del VIRN un área de cultivo con gran potencial para el desarrollo de actividades agrícolas y ganaderas.

Los ensayos de campo realizados en este trabajo fueron desarrollados en el predio de la Estación Experimental Agropecuaria Valle Inferior (EEAVI), cuya posición geográfica es: Latitud: 40° 47´46. 86” S; Longitud: 63° 3´23. 12” O. Los suelos de la misma pertenecen a la serie Chacra, de textura arcillosa a franco-arcillolimsa, con relieve plano a ligeramente deprimido y drenaje imperfecto a moderadamente bien drenado. El sitio experimental cuenta con disponibilidad hídrica de calidad y adecuada infraestructura para la aplicación de los riegos necesarios durante el ciclo del cultivo.

1. Metodología implementada en el ensayo a campo

Para evaluar el efecto de la fecha de siembra en diferentes materiales genéticos de porotos a las condiciones medioambientales del VIRN se llevaron a cabo ensayos experimentales en condiciones de campo. Los mismos se realizaron en la EEAVI convenio Provincial INTA.

Previo a la preparación del suelo se tomaron muestras aleatorias del mismo para caracterizar las propiedades físico-químicas del sitio experimental según lo recomendado por Inalbon & Valenzuela, 2005. Como se puede apreciar, el suelo presentó textura arcillo limosa con propiedades químicas dentro de parámetros normales que lo califican como de buena aptitud agrícola (tabla 1).

Tabla 1. Características fisicoquímicas del sitio experimental

pH	CE (mS/cm)	RAS	K asimilable (mg/kg)	P disponible (mg/kg)	Nt (g/100g)	MO (g/100g)
8,38	0,57	1	605	17,6	0,18	3,51

pH, C.E (conductividad eléctrica), RAS (relación de adsorción de sodio), K (potasio) P (fósforo), Nt: nitrógeno total, MO: materia orgánica. C.E y RAS cuantificados en extracto de saturación y pH en relación 1:2,5. Fuente: Laboratorio de Análisis de Calidad Ambiental Regional (LACAR). Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Zona Atlántica.

Es importante destacar los valores de P obtenidos en el suelo, debido a su importancia en los procesos de nodulación y producción de la planta de poroto. La bibliografía sugiere realizar fertilizaciones a partir de valores de 12 mg/kg P (Ortega et al., 2008). Los resultados obtenidos indican una buena provisión de este nutriente en el suelo disponible para promover la fijación simbiótica de N.

En la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, el P forma parte de las moléculas del ATP responsable de la liberación e intercambio de energía, además de su consumo para la formación de los tejidos nodulares. Estudios demostraron que la aplicación del P y potasio permite alcanzar mayores rendimientos, mayor peso fresco y seco de los nódulos, así como alta efectividad de fijación de N (Hernández Salido & Salido García, 2019).

Las labores culturales realizadas previas a la siembra consistieron en una pasada de rastra pesada, dos pasadas de cincel, dos pasadas de rastra liviana y el armado de surcos a 70 cm de distancia entre sí. Se realizó un riego presiembra para permitir un leve compactado del suelo que favoreció el armado de los surcos, la acumulación de agua en el perfil y el desarrollo de malezas previo a la siembra para su posterior control. A continuación se efectuó la aplicación de herbicida presiembra (glifosato 2,5 l ha⁻¹) para eliminar las malezas y favorecer la emergencia del cultivo.

Realizadas las tareas antes mencionadas, se delimitaron parcelas experimentales y se procedió a la siembra de las mismas. El diseño experimental utilizado fue en bloques completamente aleatorizados con tres réplicas por tratamiento. Cada parcela experimental presentó una superficie de 11,2 m² (4 surcos a 0,70 m por 4 m de longitud) por lo que cada fecha estuvo representada por una superficie total de 33,6 m². Los materiales genéticos utilizados provinieron de Salta y fueron: Red Park (Rp), Cranberry (Cb), Negro (N) (*Phaseolus vulgaris* L) y Mungo (M) (*Vigna radiata*). Las fechas de siembra evaluadas fueron separadas entre sí en aproximadamente 20 días y fueron: 25/10, 15/11 y 5/12. La siembra se realizó de manera manual, colocando una semilla cada 10 cm a una profundidad menor a 2,5 cm.

Las variables meteorológicas inciden en el crecimiento del cultivo de legumbres, por este motivo, los parámetros de temperatura (T°), precipitaciones y evapotranspiración de referencia (Eto) fueron registrados para los meses implicados en el ensayo mediante una estación meteorológica portátil ubicada en el lote experimental (figura 2).

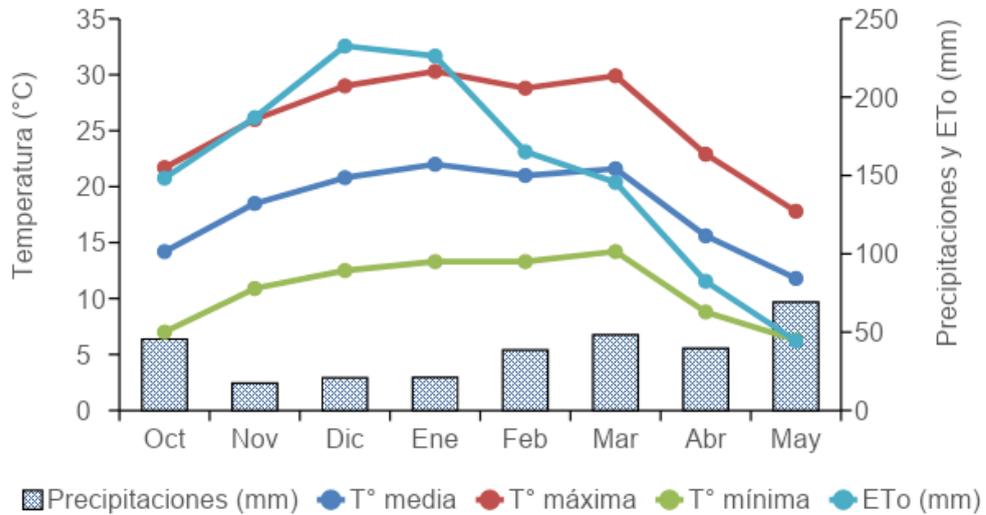


Figura 2. Valores de temperatura, evapotranspiración y precipitaciones para el sitio experimental durante el ciclo productivo 2019-2020. Fuente: Estación meteorológica de la EEAVI.

En la figura 2 se observa que la temperatura media para el periodo de estudio fue de aproximadamente 20°C, las máximas alcanzadas variaron entre 25 y 30°C y las mínimas entre 6 y 7 °C. La evapotranspiración fue máxima durante los meses de noviembre, diciembre y enero, para luego disminuir paulatinamente hasta el mes de mayo. En el mes de octubre, las precipitaciones permitieron acumular agua en el perfil de suelo para el momento de la siembra e implantación del cultivo. Si bien existió un aporte de agua de lluvia a lo largo del ciclo de cultivo, la distribución de las mismas fue irregular, incluso en los meses de mayor evapotranspiración las precipitaciones fueron menores. A pesar de ello, no generó influencias en el desarrollo del cultivo dado que la zona de estudio cuenta con agua de riego de calidad que permitió mantener el cultivo en condiciones hídricas adecuadas.

Otro factor importante en el desarrollo de los cultivos es la radiación (figura 3), por ello se consideró la información obtenida en estudios locales realizados previamente (Reinoso et al., 2014). Esta información permitirá comprender el efecto de las fechas de siembra en la fenología y productividad del cultivo.

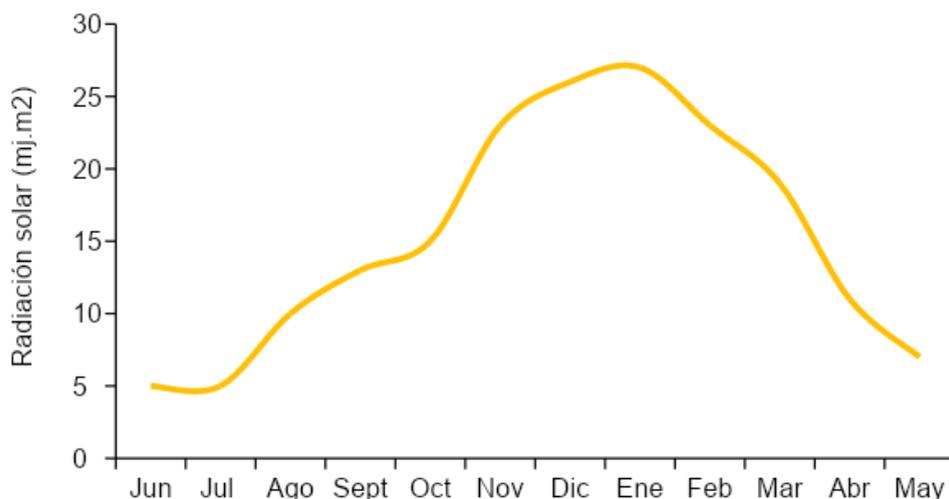


Figura 3. Evolución de la radiación solar ($Mj\ m^2$) para Viedma (Río Negro). Promedio de 47 años. Adaptado de Reinoso *et al.*, 2014.

En la figura 3 se observa la evolución de la radiación solar a lo largo del año para la ciudad de Viedma. La heliofanía se encuentra ubicada dentro del régimen de mayor volumen para el país, con un promedio de 2693 h de sol al año registradas en el periodo 1965-1994, lo que permite asumir una rica disponibilidad de este elemento aun para los cultivos más exigentes. Se puede observar que durante la estación primavero-estival se alcanzan los valores más altos. Durante los meses de marzo-abril, la elevada luminosidad sumado a las temperaturas aún elevadas da como resultado otoños benignos para los cultivos (Martin, 2009). Esta información es importante debido a que, como se mencionó anteriormente, afectan la duración de las etapas fenológicas y por lo tanto, del crecimiento del cultivo.

Durante el ciclo de cultivo se realizaron 8 riegos (aproximadamente 800 mm en total) con el objeto de cubrir los requerimientos de las legumbres estudiadas, y se efectuaron tareas de desmalezado manual para favorecer la implantación y desarrollo de las mismas. Es importante mencionar que no se observaron problemas sanitarios ni de plagas.

Cuando las plantas se encontraban en inicios del estadio de floración se efectuó la aplicación de fertilizante para favorecer el desarrollo de las plantas y la fructificación de las mismas. Para ello, se utilizó fosfato diamónico a razón de $100\ Kg\ ha^{-1}$.

A lo largo del ciclo del cultivo, con una frecuencia de diez días, se realizó el recorrido de las parcelas experimentales a fin de identificar: estadios fenológicos (según lo descrito por Fernández, 1986), necesidades de riego y problemas sanitarios si los hubiese.

Al momento de la cosecha, en cada fecha de siembra, se recolectaron 3 muestras de plantas de 1 metro de longitud sobre el surco central de la parcela (para eliminar el efecto borde). El número de plantas cosechadas fue registrado, al igual que el número de vainas. A continuación las mismas, fueron trilladas y los granos obtenidos fueron sometidos a un proceso de secado en estufa a baja temperatura (20°C) hasta peso constante, para obtener el peso seco. Con estos resultados se obtuvo el número de vainas y el rendimiento en granos para cada parcela experimental y a continuación a través de un cálculo matemático se llevó a la superficie de hectárea. Para conocer el peso de mil granos (P1000) se efectuó el recuento y el pesado de los mismos. Se realizaron 3 réplicas por cada parcela.

2. Metodología implementada en ensayos de laboratorio

A partir de los resultados obtenidos experimentalmente a campo, se seleccionaron los materiales genéticos con mejores atributos de rendimiento y sanidad para realizar germinados y evaluar su efecto en la calidad nutricional de los mismos.

Para el proceso de germinación, se desinfectó una muestra de semillas con hipoclorito al 1% por 20 minutos y tres enjuagues posteriores con agua destilada por periodos de 15 minutos cada uno. A continuación, las semillas fueron colocadas en bandejas acondicionadas con algodón y papel humedecido e incubadas en cámara de germinación bajo condiciones de oscuridad, con temperatura y humedad controladas. La temperatura utilizada fue de 25 ± 2 °C (Sangronis & Machado 2005) y los tiempos de germinación evaluados fueron: 24, 48 y 72 h. Esta característica diferencia el proceso de obtención de germinados (estadio post-germinación) con el de obtención de brotes, proceso para el cual se requiere mayores tiempos (de 3 a 5 días) de germinación (Filho, 2005). Para mantener un adecuado nivel de humedad, las semillas fueron asperjadas diariamente con agua destilada. Se consideró como semilla germinada aquella que presentó una radícula de al menos 10 mm de longitud (Jeffrey & Consuelo, 1993).

Luego de la germinación, las semillas se secaron a 60°C hasta lograr un peso constante y se molieron en un molinillo portátil de laboratorio para obtener una harina. La

misma se conservó a 8°C hasta su utilización.

Para evaluar los atributos de calidad se realizaron las siguientes determinaciones:

1. Proteína Bruta (% PB). Se determinó el % PB por el método de nitrógeno total por Kjeldahl (AOAC, 1990), que consta de tres fases: digestión, donde se produce la conversión de nitrógeno en amonio; destilación, donde se genera la separación del amoníaco y por último la valoración, donde se determina el contenido de nitrógeno. Para el cálculo de nitrógeno se utilizó el factor de conversión 6.25.

2. Evaluación de proteínas solubles. Para la obtención de proteínas solubles se utilizó harina desgrasada y se realizó una extracción en una relación harina/solvente 1:10. Se utilizó buffer TRIS 50 mM pH: 8, NaCl 100 mM y betamercaptoetanol 1 mM. La extracción se llevó a cabo a 4°C en agitación durante 30 minutos. Este procedimiento se repitió dos veces y se determinó el contenido de proteínas solubles por el Método de Bradford.

3. Caracterización fisicoquímica de proteínas. Para ello se realizó un gel SDS-PAGE de 12% según Laemmli (1970) en el cual se llevó a cabo la corrida electroforética, luego los geles se fijaron con metanol al 50% y ácido acético 10%, se lavaron con agua destilada y se tiñeron con Coomassie Brilliant Blue (0.01%). Por último fueron desteñidos con agua destilada por 24 h. Se realizaron tres repeticiones de tinción, lavado y teñido con una duración de 15 minutos en agitación constante cada uno de ellos.

4. Obtención y cuantificación de polifenoles. La extracción de los mismos se realizó a partir de la harina de semillas según Ombra et al., (2016). Para ello se utilizó metanol al 70% en una proporción harina: solvente de 1:5. La extracción se realizó durante 2 h en agitación a 4 °C. Luego se centrifugó por 5 minutos para extraer el sobrenadante. El contenido de polifenoles totales (CPT) se cuantificó a través del método de Folin-Ciocalteu (Council of Europe, 2007). Las muestras se incubaron una hora en oscuridad y se agregó Na₂CO₃ para luego leer la absorbancia a 760 nm. Se utilizó ácido gálico como patrón de referencia.

5. Determinación de lectinas. Las lectinas son proteínas que tienen la capacidad característica de aglutinar los glóbulos rojos de una manera similar a los anticuerpos. Para su determinación, células rojas de la sangre fueron resuspendidas en un buffer PBS al 4 %v/v. Por otro lado, se prepararon diferentes diluciones seriadas de los extractos con lectinas (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 y 1/32) y se agregaron 50 µl de cada muestra

en placas multipocillo donde previamente se agregó la suspensión de glóbulos rojos (50 µl). Luego de 1 h a 30°C, se observó si había hemoaglutinación.

La actividad de cada muestra se cuantificó de acuerdo a Poblete (2020) utilizando la siguiente fórmula:

$$HU\ mg = (Da \times Db \times S)/V$$

Donde,

Da: último factor de dilución

Db: dilución en HA

S: ml extracto original/ mg de harina de poroto

V: ml de extracto en el tubo

6. Determinación de ácido fítico. Se realizó según el método descrito por Mohamed, Perera & Hafez (1986). Las extracciones se realizaron con HCl al 2,4% en una relación harina/solvente de 0.5:10. Luego las muestras se incubaron por 1 h a temperatura ambiente en agitación. Por último se centrifugó extrayendo el sobrenadante. La concentración de fitato se determinó colorimétricamente utilizando el reactivo de Wade (FeCl₃.6H₂O al 0,03%, ácido sulfosalicílico al 0,3%) y como patrón se utilizó ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) a diferentes concentraciones (0-1 mg/ml). Se realizó la lectura mediante espectrofotómetro a una longitud de onda de 830 nm.

Análisis estadístico

El diseño experimental utilizado a campo fue un diseño en bloques completamente aleatorizado con tres tratamientos (fechas de siembra) y cuatro materiales genéticos. Cada tratamiento contó con 3 réplicas.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y para determinar las diferencias entre medias se realizó un test de Fisher (DMS) al 5% de significación. Este análisis fue llevado a cabo a través del programa estadístico INFOSTAT versión estudiantil (Di Rienzo *et al.*, 2008).

Resultados y discusión

- **Ensayos realizados a campo**

1. Evaluación de fechas de siembra en diferentes materiales genéticos

La fenología establece las distintas fases del desarrollo por las que atraviesa un cultivo, tiene en cuenta los cambios morfológicos y fisiológicos que se producen a medida que transcurre el tiempo. El ciclo biológico de un organismo cambia con el genotipo y con los factores del clima, esto quiere decir, por ejemplo, que plantas de un mismo genotipo sembrado bajo diferentes condiciones climáticas pueden presentar distintos estadios de desarrollo después de transcurrido el mismo tiempo cronológico. Un manejo adecuado, un conocimiento riguroso de cada una de las etapas y de los factores ambientales que las afectan permitirá comprender los resultados productivos del cultivo en cuestión (Ortas, 2008).

En este sentido, es importante destacar que para los diferentes materiales genéticos estudiados no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los estadios fenológicos evaluados para las condiciones de estudio. Por este motivo se presentan a continuación valores medios para las diferentes etapas fenológicas estudiadas para cada una de las fechas de siembra (figura 4). En relación a ello, la frecuencia de las observaciones a campo en las diferentes etapas del cultivo pudo haber incidido en estos resultados dado que, las mismas fueron efectuadas con una frecuencia de 10 días y es posible haber perdido precisión en los registros. En varias oportunidades se observó superposición de las etapas fenológicas que dificultaban establecer con exactitud el inicio y fin de las mismas.

Respecto a la duración del ciclo del cultivo se observaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,001$) en relación a las fechas de siembra evaluadas. En este sentido, se apreció una disminución general del mismo a medida que se retrasó la fecha de siembra, con duraciones de 147, 127 y 110 días para las tres fechas evaluadas respectivamente (figura 4). Esto podría deberse a que el desarrollo de las plantas es sensible a la temperatura ambiente durante todo el ciclo del cultivo e influye sobre la longitud de las etapas fenológicas. El ciclo es menor cuando las plantas se exponen a

temperaturas más elevadas debido a que se modifica la tasa de desarrollo (Toledo, 2017).

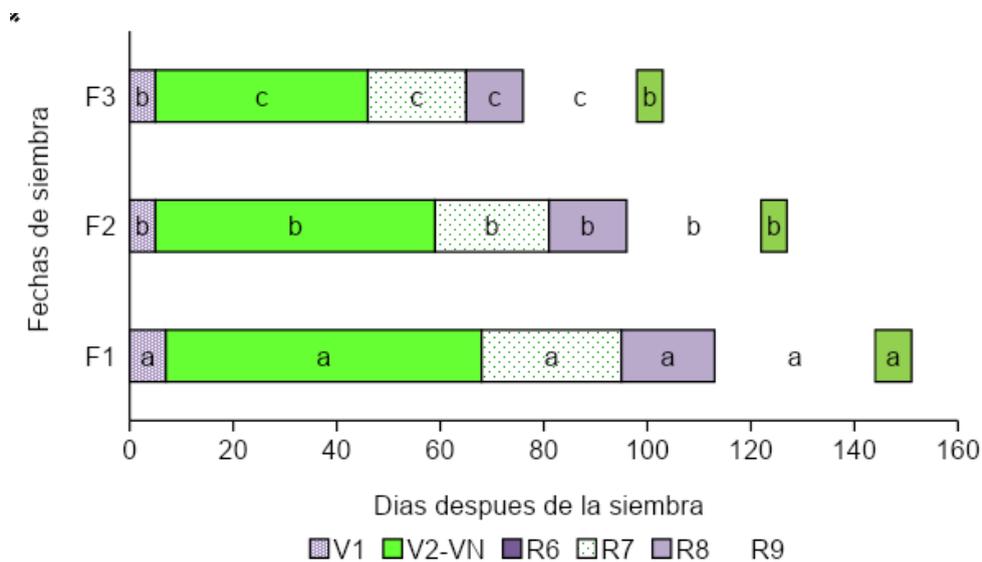


Figura 4. Estadios fenológicos. V1: emergencia. V2-VN: Vegetativo R6: floración. R7: formación de vainas. R8: llenado de granos. R9: madurez. F1: Fecha 1 (25/10) F2: Fecha 2 (15/11), F3: Fecha 3 (05/12)

Para el estadio de emergencia (V1) se observaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre la fecha 1 (F1), la cual presentó un periodo de duración mayor, respecto de las restantes fechas que no presentaron diferencias entre sí. Este comportamiento también fue observado en el estadio de madurez (R9). La reducción observada en V1 para las fechas 2 (F2) y 3 (F3), podría estar asociada a las temperaturas ambientales crecientes (temperatura media ($^{\circ}\text{C}$) F1: 17,04; F2: 20,38 y F3: 19,56) y a la mayor radiación registrada en este periodo (Radiación media (Watt/m^2) F1: 274; F2: 338 y F3: 396 Figura 3). Estos parámetros posiblemente incidieron de manera positiva en la temperatura del suelo y promovieron una germinación más pronta de las semillas. Esto concuerda con lo mencionado anteriormente por Toledo (2017) y con lo estudiado por Maqueira López et al., (2021) donde se observó que el aumento de la temperatura incrementa la velocidad de germinación, aunque por encima de 32°C este parámetro puede verse reducido. En este sentido Forsythe (2002) menciona un efecto positivo de la radiación solar sobre la temperatura ambiente y la del suelo.

2. Rendimiento

En relación al rendimiento en grano obtenido para las diferentes fechas de siembra estudiadas se observó que en la mayoría de los casos la F2 presentó los valores de rendimiento más elevados (figura 5). Para la variedad Cb no se hallaron diferencias estadísticas entre F2 y F3 sin embargo, F2 presentó un rendimiento de 155 kg ha⁻¹ mayor. Rp mostró un rendimiento evidentemente superior (45%) en F2 respecto de las fechas restantes. El poroto negro presentó valores similares de rendimiento entre F1 y F2 (1182 kg ha⁻¹) los cuales fueron superiores respecto de F3. Asimismo, los valores de rendimiento de esta variedad resultaron intermedios a los obtenidos por Cb y Rp. La variedad M presentó los valores más bajos en rendimiento, destacándose la F2 como la más productiva con valores de 820 kg ha⁻¹. Esta menor productividad podría estar asociada a una deficiente capacidad de competencia con malezas.

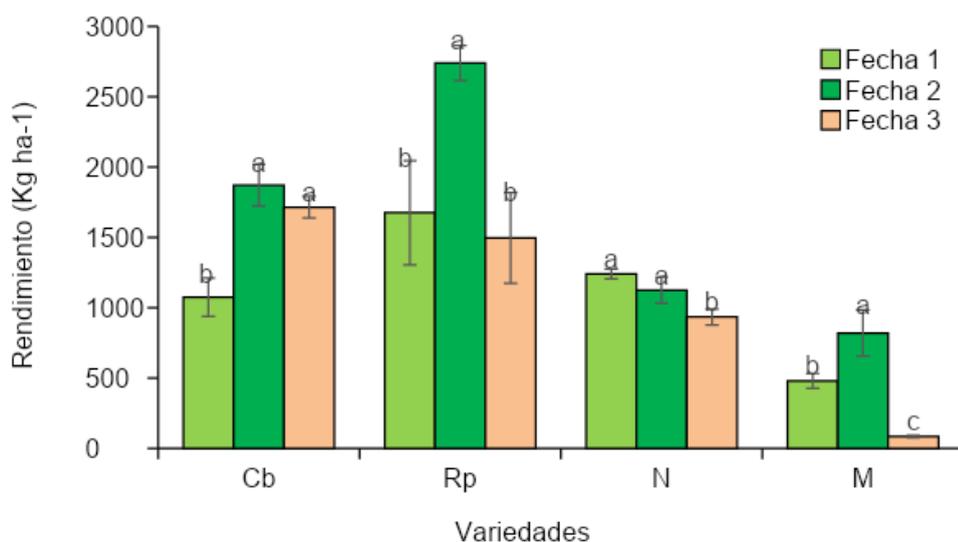


Figura 5. Rendimientos de las variedades Cranberry (Cb), Red Park (Rp), Negro (N) y Mungo (M) para las fechas de siembra evaluadas

Los rendimientos obtenidos para F2 bajo las condiciones medioambientales de este trabajo superan a los valores medios publicados para la zona norte de nuestro país, donde se indican rendimientos entre 800 y 1500 kg ha⁻¹ para Rp y Cb, entre 700 y 2400 kg ha⁻¹ para poroto N y entre 650 y 1900 kg ha⁻¹ para M (Vizgarra et al., 2006; Espeche et al., 2019, Toledo et al., 2019).

Para explicar las diferencias de producción entre especies y fechas de siembra estudiadas se analizaron algunos componentes de rendimiento: plantas ha⁻¹, vainas ha⁻¹ y P1000 semillas (tabla 2).

Tabla 2. Componentes del rendimiento estudiados

	Plantas ha ⁻¹			Vainas ha ⁻¹			P1000		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Cb	100.000b	95.238b	114.000a	710.000a	1.117.067b	1.500.467a	458,70a	468,80a	373,00b
RP	95.238b	104.760a	98.328b	975.067b	1.060.267a	790.467c	376,90a	380,90a	287,90b
N	104.760a	104.760a	80.952b	1.202.740a	1.233.000a	1.069.733b	242,70a	249,70a	193,90b
M	66.000b	76.190a	60.660b	657.933a	269.800b	179.867c	57,10b	68,20a	51,40b

F1: Fecha 1 (25/10) F2: Fecha 2 (15/11), F3: Fecha 3 (05/12.). Valores dentro de una misma variable para una variedad seguidos de la misma letra, no difieren significativamente según el test de LSD Fisher ($p \geq 0,05$).

Para la variedad Cb los mayores rendimientos obtenidos corresponden a F2 y F3 sin diferencias estadísticas entre sí ($p < 0,001$), estos resultados podrían explicarse debido a que en F3 el número de plantas ha⁻¹ fue 19% superior respecto de F2. Este mayor número de plantas se tradujo en un incremento en el número de vainas ha⁻¹ que permitió compensar el rendimiento de F2 a pesar de presentar granos más pequeños. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Ishag (1973), quien destaca la relevancia de la densidad de plantas en el rendimiento por efecto compensatorio del número de vainas y/o el tamaño de los granos. La reducción en los rendimientos de F1 está relacionada con el menor número de vainas m⁻¹; donde a pesar de presentar granos de mayor tamaño no logró equiparar en rendimientos a las restantes fechas.

Para Rp los mayores rendimientos se expresaron en la F2 y pueden atribuirse al incremento en el número de plantas ha⁻¹, al mayor número de vainas ha⁻¹ y al mayor tamaño de los granos. Entre F1 y F3 no se aprecian diferencias estadísticas en el rendimiento ($p > 0,05$). Esto podría deberse a que el test empleado no detectó diferencias en el número de plantas ha⁻¹. A pesar de ello, F3 presentó 3090 plantas ha⁻¹ más, las cuales podrían compensar el menor número de vainas y el menor peso de granos alcanzado.

La variedad N presentó los mayores rendimientos en F1 y F2 sin diferencias estadísticas entre sí. Esto podría explicarse en función de los componentes del

rendimiento estudiados que tampoco se modificaron entre fechas.

Por último, los mayores rendimientos de la variedad M se observaron en F2, posiblemente debido al mayor número de plantas ha^{-1} . El número de vainas ha^{-1} es intermedio respecto de las restantes fechas sin embargo, este componente del rendimiento parece ser compensado por un mayor tamaño de granos.

La fecha de siembra crea condiciones ambientales definidas tales como disponibilidad de humedad, temperatura, fotoperiodo y sus interacciones, que influyen positiva y negativamente en el crecimiento y desarrollo del cultivo de porotos (Acosta et al., 1996). Estas condiciones modifican el entorno que incide en la duración de las etapas fenológicas lo cual repercute en la producción de materia seca, en el rendimiento en grano y de sus componentes (Acosta et al., 1996; Ribeiro et al., 2003). En este sentido, podemos mencionar que en el caso de F1, las temperaturas ambientales iniciales fueron menores (figura 2), hecho que extendió el periodo de emergencia. Conforme se incrementó la temperatura y bajo condiciones de fotoperiodo largo, se promovió el desarrollo vegetativo y un periodo reproductivo más extenso, lo que concuerda con lo mencionado por Marchiori (2015) quien indica que días largos retrasan la floración y la madurez. En F3 ocurrió lo contrario, al sembrar 46 días más tarde respecto de F1, las temperaturas ambientales fueron más elevadas (figura 2) lo que permitió al cultivo adelantar el tiempo de emergencia. Durante el estadio vegetativo, estas condiciones fueron más notorias sobre todo en los meses de enero y febrero, lo cual pudo haber afectado negativamente en el desarrollo de la planta y en el cuajado de los frutos tal como menciona Enciso et al., 2019. Así mismo, en condiciones avanzadas del ciclo del cultivo (en el estadio reproductivo) las temperaturas y el fotoperiodo comenzaron a disminuir (figura 2 y 3), lo que influyó en el patrón de desarrollo y en la partición de fotoasimilados.

Las plantas de F3 resultaron de menor porte respecto de las restantes fechas de siembra (datos no mostrados) es decir, bajo las condiciones medioambientales de esta fecha, el periodo de desarrollo fue menor y se redujo la producción de biomasa la cual incidió en el rendimiento del cultivo. A pesar de ello, en algunas variedades se observó el efecto compensatorio de uno o varios componentes del rendimiento que permitieron equiparar e incluso superar la producción de F1 como ocurrió en Rp y Cb. En el caso de las variedades N y M el efecto de las condiciones medioambientales fueron más

evidentes en el desarrollo de los mismos y F3 no logró compensar los mayores rendimientos alcanzados en las fechas anteriores.

En este sentido, existen numerosos autores que hacen referencia al efecto compensatorio de los distintos componentes del rendimiento tal como se ha observado en este trabajo (Duarte & Adams 1972; Goncalves et al., 2003; Salehi et al., 2010). Estos autores mencionan como el componente más preponderante en el rendimiento, al número de vainas/planta, y destacan una respuesta similar del número de semillas y del peso de las mismas.

Como se mencionó anteriormente, los menores rendimientos de F3 podrían tener relación con el menor porte de las plantas de esta fecha de siembra, lo cual concuerda con lo indicado por Ramírez-Vallejo & Kelly (1998). Estos autores informaron que, en porotos, una alta biomasa aérea está asociada a una mayor producción de fotoasimilados que se transloca a las vainas y semillas con incrementos en el rendimiento.

En función de los resultados obtenidos podemos considerar a F2 como óptima para la siembra del cultivo de porotos en la región dado que, las condiciones medioambientales permiten un desarrollo fenológico armónico del cultivo con rendimientos elevados.

- **Ensayos realizados en laboratorio**

- 1. Evaluación de la germinación en las variedades de *P. vulgaris* estudiadas**

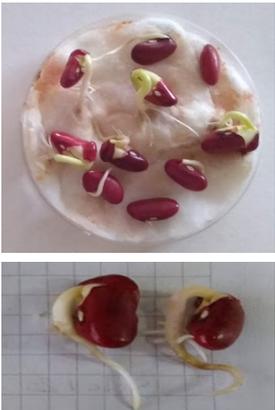
Las etapas de germinación de una semilla involucran rehidratación, utilización de reservas y formación de las estructuras de síntesis que permitirán a la plántula asumir un modo autótrofo de existencia. En términos bioquímicos la germinación es el resultado de procesos catabólicos y anabólicos. Los primeros ocurren en los órganos de almacenamiento (cotiledones en dicotiledóneas) y consisten en la degradación y movilización de las macromoléculas de reserva. Los segundos ocurren en los ejes embrionarios y se asocian a la síntesis de macromoléculas y componentes estructurales para generar nuevas células y tejidos durante el crecimiento (Kermode, 1990).

A partir de los resultados obtenidos experimentalmente a campo, se seleccionaron los materiales genéticos con mejores atributos de rendimiento para realizar germinados y evaluar su efecto en la calidad nutricional de los mismos. Estos

corresponden a las variedades Rp y Cb de la F2. Los resultados obtenidos en el ensayo de germinación se observan en la tabla 3. Transcurridas 24 h no se observó germinación en ninguna de las variedades estudiadas, conforme incrementó el tiempo, el porcentaje de semillas germinadas aumentó. La variedad Cb presentó valores de germinación superiores respecto de RP.

El período de germinación es una variable decisiva en este proceso biológico y bajo las condiciones de este ensayo, 72 h fueron suficientes para alcanzar porcentajes de germinación superiores al 90 % (tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de germinación de las variedades Cranberry (Cb) y Red Park (Rp) para 3 tiempos (24, 48 y 72 h) de germinación

	Cb	RP
24 h	0% 	0% 
48 h	82% 	74% 
72 h	100% 	90% 

2. Atributos de calidad para las variedades de *P vulgaris* estudiadas

2.1 Contenido de Proteína total

Los porotos se caracterizan por contener proteínas y nutrientes dietéticos

destacados que complementan alimentos como la carne, el trigo, los cereales y otras legumbres alimenticias. El contenido de proteína de los porotos es similar al de la carne, con valores que oscilan entre el 20% y el 30% (Ganesan & Xu, 2017). No obstante, los granos de leguminosas tienen componentes que influyen en la digestibilidad y utilización de las mismas.

El contenido de proteínas totales puede observarse en la figura 6. Los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,001$) en los valores de proteínas totales conforme se incrementó el tiempo de germinación.

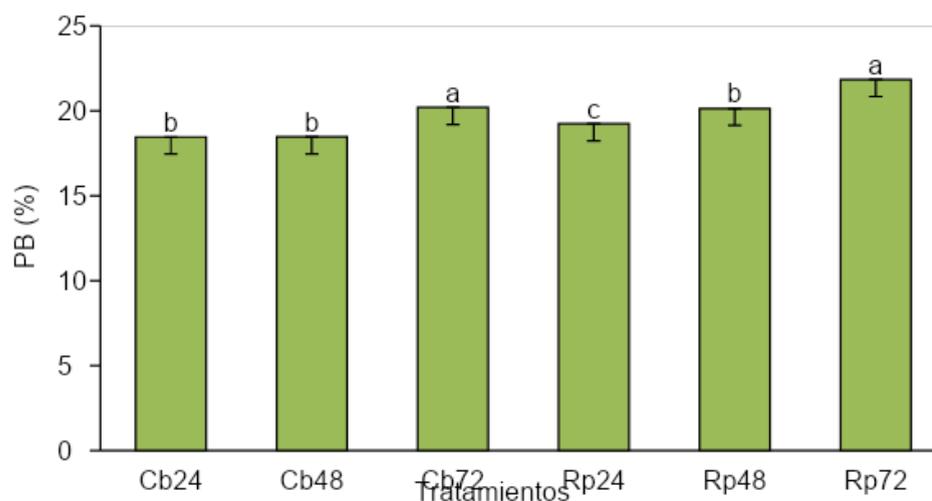


Figura 6. Valores de proteína bruta (%) para las variedades Cranberry (Cb) y Red park (Rp) en diferentes tiempos de germinación (24 h, 48 h y 72 h)

En la variedad Cb no se hallaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de proteína entre las 24 y 48 h de germinación. Sin embargo, a las 72 h se observó un incremento significativo del 8.6%. Por otra parte, en la variedad Rp, el incremento fue gradual con diferencias apreciables en los tres tiempos evaluados. El mayor incremento se observó a las 72 h con 11.92%, esto representa un 3.3 % más que la variedad Cb para el mismo tiempo de germinación. En concordancia con lo hallado, Alonso et al., (2000) observó un incremento gradual del contenido proteico de semillas germinadas de *P. vulgaris* durante un período entre 24 y 72 horas. En este sentido, otros autores para esta especie, indican un comportamiento similar en el incremento de proteínas totales asociados al proceso de germinación (Ramos de vega & Sangrois, 2006; Uwaegbute et al., 2000)

El incremento de proteínas observado probablemente sea consecuencia de actividades anabólicas y catabólicas, de la respiración, de la síntesis de proteínas y de la movilización de las reservas después de la absorción de agua tal como ya ha sido reportado (García & Primo, 1993; Uwaegbute et al., 2000; Uriyo, 2001). Es decir, el contenido de proteínas real estará determinado por el efecto neto de la síntesis y la degradación. En general, parece que la síntesis neta de proteínas supera la degradación debido a la necesidad crítica de síntesis de ácidos nucleicos necesarios para el crecimiento, lo que puede influir en un aumento neto de proteínas (Moongngarm & Saetung, 2010).

2.2 Determinación de proteínas solubles

Durante la germinación se produce un aumento en la secreción de hormonas y enzimas que hidrolizan las reservas presentes en las semillas, consecuentemente ocurre el transporte de sustancias solubles y de hormonas al punto de crecimiento. La germinación también activa hidrolasas tales como proteasas que convierten las moléculas de proteína en aminoácidos, lipasas que actúan sobre compuestos grasos para dar ácidos grasos y carbohidrolasas que ejercen su acción sobre los depósitos de almidón para dar maltosa y luego glucosa (Chaudhary et al., 2013).

En este sentido, la germinación y las condiciones en la que la misma se lleva a cabo podrían causar cambios en la composición y en las propiedades funcionales de los fitoquímicos constituyentes debido a la respiración aeróbica y a la bioquímica del metabolismo.

En relación a las variedades de *Phaseolus* estudiadas, las proteínas solubles no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en función de los tiempos de germinación (figura 7). Sin embargo, para la variedad Cb se apreció un incremento de un 5.31% de esta variable a las 72 h con respecto a las 24h del proceso germinativo. Winarsi et al., (2020) observaron una tendencia a incrementar el contenido de proteína soluble en tiempos de 10, 20 y 30 h en una variedad roja de *Phaseolus* sin embargo, no percibieron diferencias significativas entre las 20 y 30 h. En este sentido, Xue et al., (2014) detectaron cambios en el contenido de proteína soluble en cuatro tipos de legumbres (*Mung*, *Vigna radiata L.*, *Glycine max L.* *Phaseolus vulgaris L.*(Black)) durante el proceso de germinación. Este autor muestra variaciones (incrementos y reducciones) en el transcurso de los días, pero logra los mayores valores en el día 6 de germinación. No obstante, los valores informados por este autor (1.89 mg/g para mungo y 1.5-2.0

mg/g para soja y poroto negro, respectivamente) resultan inferiores a los obtenidos en este trabajo con menores tiempos de germinación (4.33 mg/ml para Cb y 3.88 mg/ml para Rp).

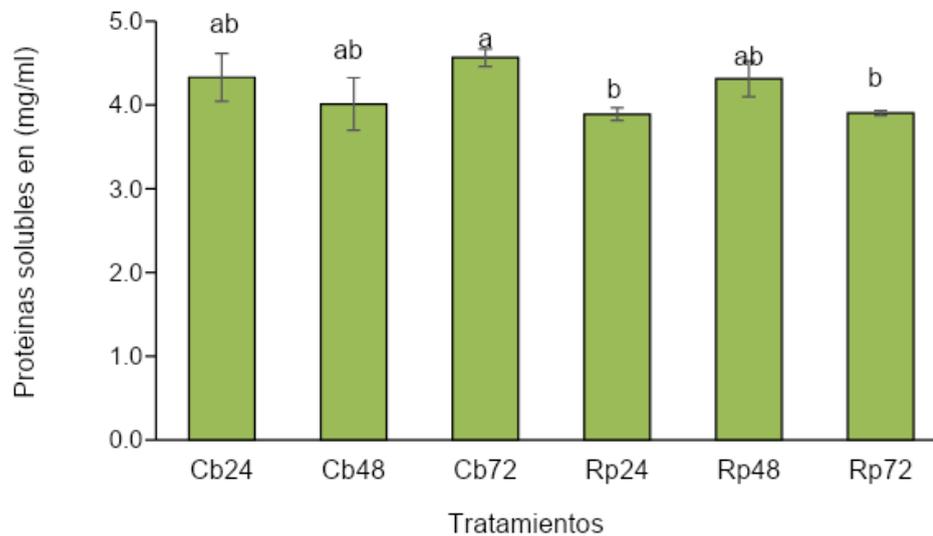


Figura 7. Valores de proteína soluble (mg/ml) para las variedades Cranberry (Cb) y Red Park (Rp) en diferentes tiempos de germinación (24h, 48h y 72 h)

El contenido de proteínas solubles de este trabajo no mostró diferencias estadísticas asociadas a los tiempos de germinación sin embargo, se aprecia un comportamiento variable en el tiempo. Esto podría estar relacionado a las condiciones de germinación, a la existencia o no de remojo previo de las semillas y a las características propias de cada variedad (Vijaylaxmi 2013; Nkhata et al., 2018)

Por otra parte, los conceptos de semillas germinadas y brotes son diferentes. La semilla germinada (o germinado), se relaciona con el primer estadio post-germinación. En esta etapa, luego de dos a tres días de iniciado el proceso de germinación, el germen comienza a transformar la reserva nutritiva en el alimento vivo para ser asimilado por la nueva planta. En cambio, el brote corresponde a un estadio más avanzado de desarrollo, de cinco a siete días, donde se observa la presencia de la radícula, el vástago, clorofila, la pérdida de la cáscara y la asimilación de casi toda reserva nutritiva (Marcos Filho, 2005). Por ello, y debido a la proteólisis y a la solubilización parcial que se produce con la germinación de las semillas, se esperaría un aumento de las proteínas solubles en agua y de los aminoácidos libres en las semillas germinadas (Mbithi-Mwikya et al., 2000). Probablemente para evidenciar un incremento considerado en el contenido

de proteínas solubles debería tenerse en cuenta tiempos de germinación mayores a los estudiados, sin embargo, este trabajo buscó analizar los atributos de calidad bajo la condición de semilla germinada.

2.3 Caracterización fisicoquímica de extractos proteicos

Los perfiles proteicos de las variedades estudiadas se evaluaron a través de un gel SDS-PAGE de 12% de acrilamida. En el mismo se pudo apreciar la presencia de bandas de 70 kDa, 50 kDa y 15-32 kDa compatible con la presencia de phaseolinas, vicilinas y lectinas, respectivamente (Piñuel et al., 2019). Según estos patrones proteicos encontrados en los porotos germinados por SDS-PAGE, puede apreciarse una disminución en la intensidad de las bandas como consecuencia del incremento en el tiempo de germinación (figura 8). Este efecto fue más evidente en la variedad Rp respecto de Cb. Una posible explicación a este fenómeno podría ser el desdoblamiento de las proteínas y carbohidratos durante la germinación, donde las mismas son degradadas a subunidades menores para ser utilizadas por el embrión. Las diferencias entre variedades podrían estar relacionadas con la composición de carbohidratos, lípidos y proteínas, y a la interacción de estos constituyentes en la matriz y en la disponibilidad de los mismos (Wang et al., 2020).

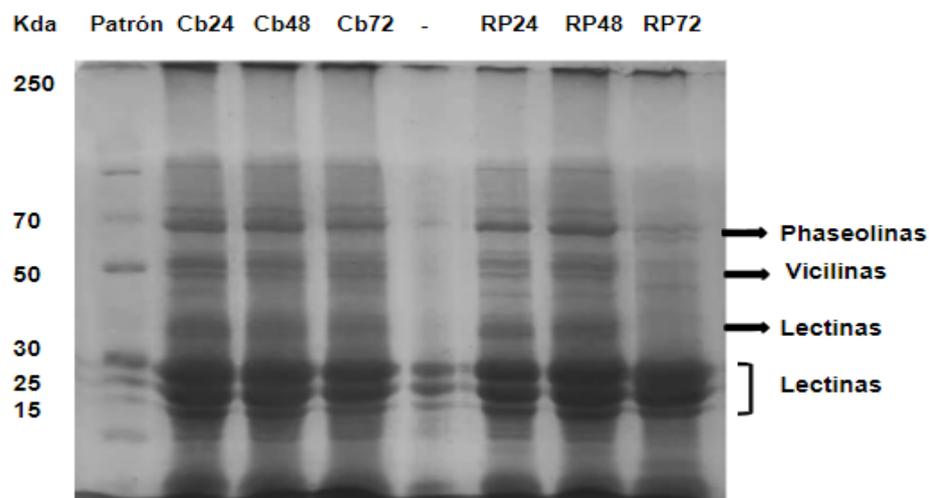


Figura 8. Perfil electroforético de los porotos Cranberry (Cb) y Red Park (RP).

En los porotos, las proteínas de almacenamiento representan el 50% de la proteína que contiene el grano y de estas, las albúminas representan entre 15-21%, las

globulinas entre 33-45%, las glutelinas entre 13-41% y las prolaminas en general, menos del 1%. Dentro de las globulinas, las phaseolinas son las proteínas más abundantes y son clasificadas como glicoproteínas que contienen azúcares neutros y diferentes sitios de unión de fosfato, lo que les confiere una gran variabilidad en el peso molecular de sus subunidades. A su vez, se ha determinado que la phaseolina representa entre 40-50% del nitrógeno total de la semilla (Raya-Perez et al., 2014).

En cuanto a la digestión, las phaseolinas son altamente resistentes a la hidrólisis *in vitro* y a la digestión *in vivo*. Este bajo grado de hidrólisis podría explicarse debido a que poseen una estructura compacta, rígida, y poco hidrofílica que limita la accesibilidad de las proteasas (Montoya et al., 2010). En este sentido, y en función de la disminución de bandas observadas en el gel con el incremento del tiempo de germinación, podría considerarse que la activación enzimática ocurrida durante el proceso de germinación promovería la hidrólisis (ruptura y/o desdoblamiento de su estructura) de esta proteína dando lugar a su degradación y/o utilización nutricional por parte del embrión.

Entre las proteínas de reserva asociadas a las leguminosas se encuentran también las vicilinas que son un tipo de glicoproteínas comúnmente asociadas de forma no covalente en trímeros (52- 49- 46 kDa) o incluso hexámeros con peso molecular de 150–250 kDa. En leguminosas suelen hallarse en formas ácidas con un peso molecular de alrededor de 40 kDa e incluso como subunidades básicas (polipéptidos más pequeños) con valores de 20 kDa unidas por enlaces disulfuro (Bollini & Chrispeels, 1978; Meng & Ma, 2002). La presencia de polipéptidos de menor tamaño representa la ruptura parcial de la vicilina antes de su completo catabolismo (Bollini & Chrispeels, 1978). Se han realizado estudios comparativos entre diversas proteínas de leguminosas donde se ha observado que las phaseolinas son las más resistentes a la digestión mientras que las vicilinas resultan más susceptibles (Brenes & Brenes, 1993). En este sentido, la disminución de solubilidad demostrada en la figura 7, se corresponde con la disminución observada en la figura 8, donde RP presenta una degradación más evidente de estas proteínas (phaseolinas y vicilinas). Sin embargo, en la variedad Cb esta diferencia no es tan evidente.

Otro tipo de proteína observada en el gel sería compatible con la presencia de lectinas, que también suelen denominarse fitohemoaglutininas. Su catabolismo durante el crecimiento de las plántulas y su localización en los cuerpos proteicos coincide con el de las vicilinas (Bollini & Chrispeels, 1978). Esto podría estar relacionado con lo visualizado en el gel donde conforme incrementó el tiempo de germinación se redujo la

banda compatible con las vicilinas (50 kDa), destacándose nuevamente un efecto más notorio en la variedad RP. Este comportamiento también se visualizó en la banda compatible con las lectinas correspondientes a 32 kDa. Las otras bandas observadas (15-30 kDa) no presentaron modificaciones, lo cual podría ser compatible con bandas de lectinas y vicilinas de menor peso molecular o su combinación, que debido a su menor tamaño requieren más tiempo de germinación para poder ser hidrolizadas. Esto concuerda con lo mencionado por Basha & Beevers (1975) quienes indican que las subunidades proteicas más pequeñas pueden ser más resistentes a la degradación proteolítica. Por otra parte, Ericson & Chrispeels, (1976) indican que los polipéptidos más pequeños no son verdaderas subunidades de vicilina sino que corresponden a productos de descomposición de los polipéptidos más grandes.

La importancia de la reducción observada en estos constituyentes proteicos durante el proceso de germinación cobra relevancia desde el punto de vista de la salud humana dado que, las legumbres en general podrían causar alergias. La alergenicidad de las mismas se relaciona principalmente con las proteínas de almacenamiento (globulinas, leguminas, vicilinas, y phaseolinas) de las semillas. Estas proteínas son resistentes al tratamiento térmico, siendo necesarias altas temperaturas para afectar su antigenicidad, aunque esto produce un efecto negativo sobre la calidad de las mismas (Pascual et al., 2002). En relación a ello, algunos estudios han informado que la germinación puede reducir la inmunorreactividad de los alérgenos de las leguminosas. Durante este proceso, las proteínas de almacenamiento de las semillas se hidrolizan para promover el crecimiento de las plántulas, lo que podría descomponer los epítomos alergénicos. En este sentido, la germinación durante un periodo de 3 días redujo la inmunorreactividad de porotos y de soja en un 40 % y 70 % respectivamente (Gupta et al., 2021). En el caso de las variedades de poroto negro y mungo, se ha mencionado que la banda compatible con las vicilinas de 50 kDa mostraron una reducción con el tiempo de germinación. Sin embargo, la degradación completa se logró luego de 10 días de germinación y aun así persistieron aquellos polipéptidos de menor peso molecular (23 kDa). Esto indica que la degradación de las vicilinas es un proceso lento, donde entre los 3 y 6 días de germinación actúa una endopeptidasa, la vicilina peptidohidrolasa, que es responsable de la degradación de la vicilina, lo cual resulta en polipéptidos de alrededor de 20-30 kDa (Baumgartner & Chrispeels, 1977) tal como se observó en este trabajo (figura 8).

2.4 Determinación de lectinas por hemoaglutinación

Como se ha mencionado anteriormente, la eliminación o disminución de componentes antinutricionales como las lectinas, mediante tratamientos tecnológicos, es esencial para mejorar la calidad nutricional de las legumbres y aprovechar su potencial. En este sentido, en este trabajo se observó como resultado del incremento en el tiempo de germinación, una disminución de la actividad hemoaglutinante en ambas variedades estudiadas (figura 9).

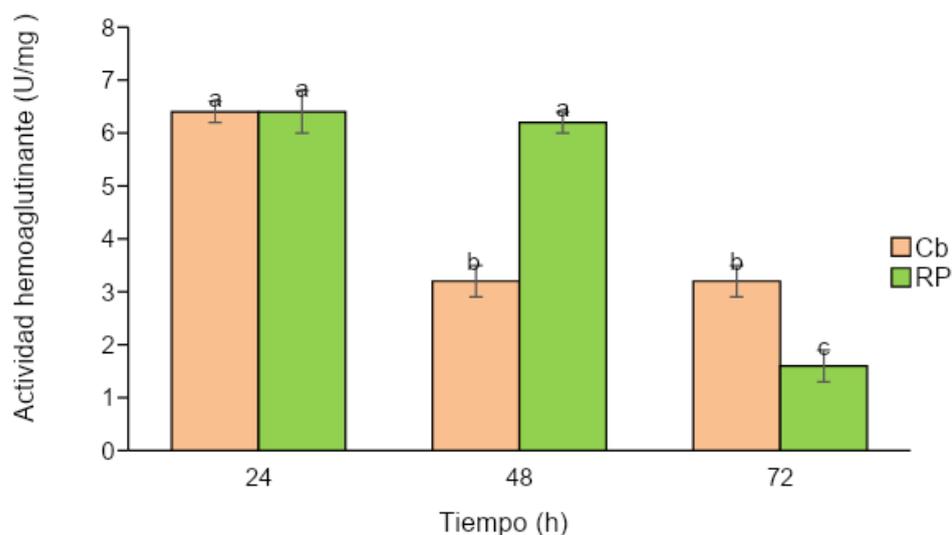


Figura 9: Efecto de la germinación de 24, 48 y 72 h sobre la actividad hemoaglutinante (en U/mg) en porotos Cranberry (Cb) y Red Park (Rp).

En el caso de los porotos Cb se observó una disminución del 50% a las 48 h y se mantuvo constante hacia las 72 h, mientras que en los porotos Rp disminuyeron un 75 % a las 72 h. Esto deja en evidencia que el incremento del tiempo de germinación en la variedad Rp promueve una reducción mayor en el contenido de lectinas comparada con la variedad Cb. Los resultados hallados en este ensayo coinciden con los de Poblete et al., (2020) quienes demostraron que luego de la germinación de los granos se observaba una disminución en el contenido de lectinas. Esto fue relacionado con cambios metabólicos durante la germinación entre ellos, la reducción de componentes de reserva de naturaleza proteica, como las lectinas y los inhibidores de tripsina y amilasa. Esto se debe a la necesidad de producir componentes estructurales como aminoácidos y

péptidos necesarios para formar nuevas estructuras celulares y/o como fuente de energía para el proceso de respiración en la etapa de germinación (Sanchez; 2019).

2.5 Determinación de polifenoles

Los polifenoles son compuestos ubicados principalmente en las cubiertas de las semillas aunque también pueden hallarse en bajas proporciones en los cotiledones (Sathe et al., 2009). En relación al proceso de germinación, existen evidencias documentadas para *Phaseolus* de variaciones en el contenido de polifenoles, sin embargo estos hallazgos son contradictorios. Esta respuesta observada ha sido relacionada con la metodología y las especies empleadas (Yang et al., 2018). En este trabajo, el proceso de germinación de las variedades estudiadas presentó una tendencia a incrementar el contenido de polifenoles conforme transcurrieron tiempos de germinación más prolongados (figura 10). A pesar de ello, el test estadístico empleado no detectó diferencias significativas en la variedad Rp para los tiempos evaluados. Para la variedad Cb el incremento en el contenido de polifenoles a las 72 h fue de un 19% respecto del tiempo de 24 h. Para RP los incrementos fueron del 11% para los mismos tiempos.

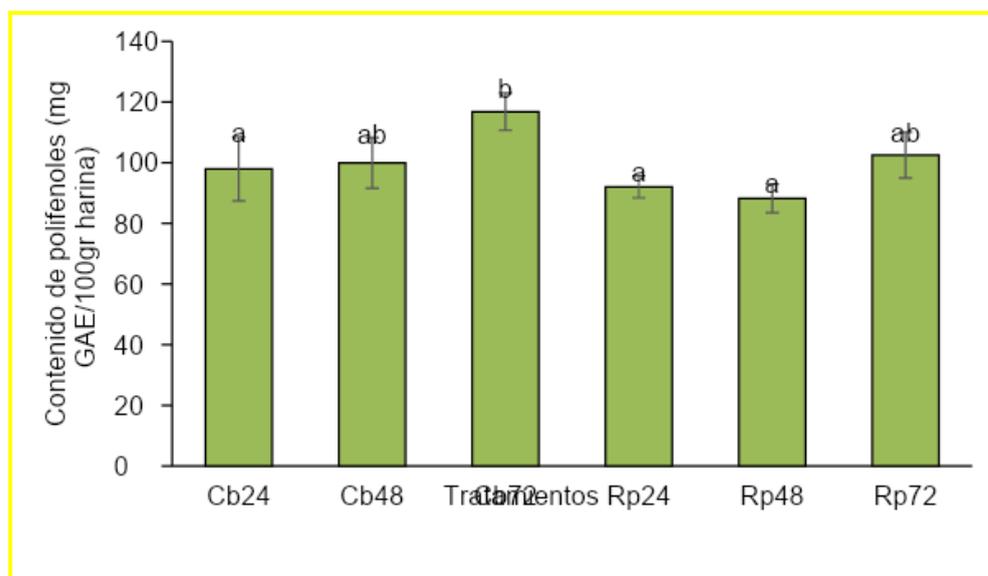


Figura 10. Contenido de polifenoles en mg GAE /100gr para las variedades Cranberry (Cb) y Red Park (Rp) en los distintos tiempos de germinación (24, 48 y 72 h)

Estos resultados coinciden con los reportados por Tajoddin (2013), donde se

observó para otra especie de *Phaseolus* un aumento progresivo de los polifenoles a partir de las 48 h de germinación. A su vez, Kapravelou et al., 2020, observaron que la germinación de *Vigna radiata* (mungo) no generaba cambios significativos en el contenido de polifenoles sin embargo, cuantificaron valores más elevados a los tres días de germinación. En este sentido, Xue et al. (2016) descubrieron que la germinación durante 6 días puede causar acumulación de polifenoles en brotes de poroto con concentraciones de 1.54 veces más que en semillas secas. Por último, Khang et al., (2016) también observaron un incremento de estos compuestos con los días de germinación, aunque con valores mayores a los reportados en este estudio. El aumento en el contenido de polifenoles de las semillas germinadas podría estar relacionado con una nueva síntesis de polifenoles, a la polimerización de compuestos fenólicos existentes e incluso a la degradación de polímeros insolubles de alto peso molecular en polímeros solubles de menor peso molecular (Tajoddin, 2013). La activación del metabolismo de una semilla se inicia en presencia de agua, allí las partículas constituyentes sufren cambios y, en consecuencia, generan energía y nuevos compuestos, incluidos los fenólicos. Durante la germinación de los porotos, los compuestos fenólicos más sintetizados son los ácidos fenólicos (Khang et al., 2016). En este sentido puede decirse que la obtención de germinados de porotos podría ser una técnica sencilla y económica que promueve la síntesis de polifenoles, compuestos benéficos para la salud humana debido a sus atributos de capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antimutagénica, antimicrobiana y por estar asociados a la reducción del riesgo de muchas enfermedades crónicas (Tajoddin, 2013).

2.6 Determinación de ácido fítico

El ácido fítico se encuentra principalmente en semillas y granos de plantas, y es una fuente de fósforo e inositol, cationes para las semillas que comienzan a brotar y de grupos fosforilo de alta energía (Sangronis & Machado, 2007; Marolt, G., & Kolar, M. 2020). En las células animales se ha demostrado que cumplen funciones antioxidantes y regulan diferentes procesos intracelulares (Marolt, G., & Kolar, M. 2020).

Como desventajas asociadas al ácido fítico se mencionan la formación de complejos estables con minerales y fuertes interacciones con proteínas, carbohidratos y lípidos que impiden su absorción intestinal, (Kumar et al., 2010; Poblete et al., 2020). A pesar de ello, existen estudios que demuestran que el ácido fítico se hidroliza como

consecuencia de la germinación, por lo cual estos elementos estarían más biodisponibles para el cuerpo humano luego de la misma (Sangronis & Machado 2007).

En este trabajo para la variedad Cb se pudo observar una disminución significativa del 18% en el contenido de ácido fítico a las 48 h de germinación, sin embargo, a las 72 h se apreció un incremento del 20% respecto del anterior. En cuanto a la variedad Rp no se observaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de ácido fítico, asociado a los tiempos de germinación (figura 11).

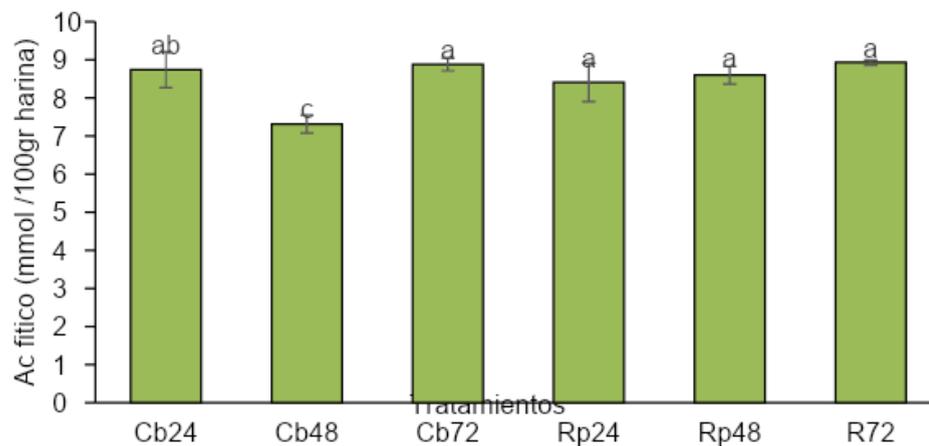


Figura 11. Contenido de ácido fítico en mmol ac. fítico/100gr harina para los germinados de 24, 48 y 72 horas.

En relación a estos resultados, un estudio realizado por Bau et al., (1997) señala que la disminución del ácido fítico es consecuencia del aumento de la actividad de las fitasas durante la germinación. Otros autores indican que si bien la cantidad de ácido fítico generalmente disminuye, lo que suceda posteriormente con los productos de la hidrólisis va a depender del tipo de leguminosa y de las condiciones que se generen durante la germinación (Sangronis & Machado, 2007).

La disminución en la concentración de ácido fítico observada a las 48 h en este trabajo podría ser explicada como un efecto de la actividad de las fitasas que degradan este compuesto para ser utilizado como fuente de energía durante el proceso de germinación (Sánchez, 2019). También se ha informado que la reducción puede ser resultado de un efecto de lixiviación durante la hidratación y como consecuencia del aumento de la actividad fitasa durante la germinación (Alonso et al., 2000).

Si bien para ambas variedades evaluadas no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de ácido fítico en función de los tiempos de germinación, se aprecia una tendencia al incremento de este compuesto. En este sentido, Poblete et al., (2020) observaron que diferentes variedades de porotos mostraban un comportamiento similar. En función de los resultados obtenidos podría pensarse que la germinación de las variedades de porotos estudiadas sería una técnica que promueve el incremento de este compuesto aunque probablemente sean necesarios mayores tiempos de germinación (obtención de brotes y no de germinados) para detectar diferencias estadísticas significativas en el tiempo. El aumento de ácido fítico a través del proceso de germinación sería precursor de pirofosfatos de inositol, donde uno de sus anillos es completamente fosforilado para crear moléculas que contienen uno o más enlaces de pirofosfato de alta energía (Menniti et al., 1993). En este sentido, han sido publicados efectos positivos del ácido fítico que lo indican como compuesto antitumoral y antiproliferativo en líneas celulares de cáncer colorrectal. También se han hallado efectos reductores de los niveles de azúcar en sangre, con lo cual su consumo es deseable para enfermedades como la diabetes y la hiperlipidemia (Poblete et al., 2020).

Conclusiones

Bajo las condiciones en las que fue realizado este trabajo se concluye:

Las condiciones meteorológicas del VIRN serían adecuadas para permitir un correcto desarrollo fenológico del cultivo de porotos.

Las fechas de siembra evaluadas permitieron identificar como momento óptimo de siembra para el VIRN, el 15 de noviembre (F2) dado que la misma posibilitó un adecuado desarrollo del ciclo fenológico del cultivo con rendimientos iguales o superiores a los de la zona identificada como principal productora a nivel nacional.

De los materiales evaluados, las variedades Cranberry y Red Park fueron los que presentaron una mejor adaptación al ambiente edafoclimático del sitio de estudio.

La obtención de germinados de porotos (estadio post-germinación) podría ser una técnica sencilla y económica que permite mejorar la calidad nutricional de estas legumbres. De este modo tiempos de germinación de 72 h permitieron:

- Incrementar el contenido de proteína total
- Disminuir el contenido de phaseolinas, vicilinas y lectinas hecho que resulta beneficioso debido a la alergenicidad de las legumbres relacionada a la presencia de estas proteínas de reserva.
- Reducir el contenido de lectinas, asociadas con efectos antinutricionales.
- Incrementar el contenido de polifenoles, compuestos benéficos para la salud debido a sus características antioxidantes y anti proliferativas.
- Tendencia a incrementar el contenido de ácido fítico, importante como precursor de energía, antioxidante y anticancerígeno.

De las variedades analizadas Red Park fue quien presentó una mejor respuesta frente a los parámetros antes mencionados.

Bibliografía

Acosta, G. J. A., P. Vargas V., and J. W. White. 1996a. Effect of sowing date on the growth and seed yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in highland environments. *Field Crops Res.* 49: 1-10

Aguilera Gutiérrez, Y. (2010). Harinas de leguminosas deshidratadas: caracterización nutricional y valoración de sus propiedades tecnofuncionales.

Alonso, R., Aguirre, A., & Marzo, F. (2000). Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food chemistry*, 68(2), 159-165.

AOAC. (1990). Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemistry. 16th edición, Ed. By Hoorwitz, N., P. Chialo, y H. Reynold, Washington, USA

Audu, S. S., & Aremu, M. O. (2011). Effect of processing on chemical composition of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour. *Pakistan journal of Nutrition*, 10(11), 1069-1075.

Basha, S.M.M., Beevers, L. The development of proteolytic activity and protein degradation during the germination of *Pisum sativum* L. *Planta* 124, 77 87 (1975)

Bau, H. M., Villaume, C., Nicolas, J. P., & Méjean, L. (1997). Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(1), 1-9.

Baumgartner, B., & Chrispeels, M. J. (1977). Purification and characterization of vicilin peptidohydrolase, the major endopeptidase in the cotyledons of mung-bean seedlings. *European Journal of Biochemistry*, 77(2), 223–233. Baumgartner, B., & Chrispeels, M. J. (1977). Purification and characterization of vicilin peptidohydrolase, the major endopeptidase in the cotyledons of mung-bean seedlings. *European Journal of Biochemistry*, 77(2), 223–233.

Becker, P. M., & Yu, P. (2013). What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects? *Molecular Nutrition and Food Research*, 57, 1695–1707.

Bolla, D. A., Miñón, D. J., Miñón, D. P., Villegas Nigra, H. M., Herrera, N. B., Andrada, L. & Silva, M. A. (2018). Tópicos de políticas públicas: desarrollo económico de la provincia de Río Negro.

Bollini, R. and Chrispeels, M. J., Characterization and subcellular localization of vicillin and phytohemagglutinin, the two major reserve proteins of *Phaseolus vulgaris* L., *Planta*, 142, 291, 1978.

Brenes, A., & Brenes, J. (1993). Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: influencia sobre su valor nutritivo. IX Curso de especialización FEDNA. Barcelona, España.

Chaudhary, N., Vyas, S. and Joshi, I. (2013). Biochemical and enzymatic changes associated with duration of germination of wheat moth based food mixes. *International Journal of Science and Research*, 4(2), 2267-2271.

Council of Europe 2007. Determination of tannins in herbal drugs. In *European Pharmacopoeia*, 6th ed. European Directorate for the Quality of Medicines: Strasbourg, France, p. A286.

Cortés, M., Chiralt, A., & Puente, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*, 12(1), 5-14.

De Simone, M. y Failde de Calvo, V. 2002. El cultivo de poroto en la República Argentina. Salta. INTA. 308 p. ISBN 987-521-067-6

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Dixon, R. M., & Hosking, B. J. (1992). Nutritional value of grain legumes for ruminants. *Nutrition Research Reviews*, 5(1), 19-43.

Duarte, R. A., & Adams, M. W. (1972). A Path Coefficient Analysis of Some Yield Component Interrelations in Field Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) 1. *Crop Science*, 12(5), 579-582.

Enciso Garay C. R; Tullo Arguello E. C; Caballero Mendoza C. A; Gonzalez Villalva J. D. (2019) Guía técnica Cultivo de Poroto.

Ericson, M.E., Chrispeels, M.J. The carbohydrate moiety of mung bean vicilin. *Aust. J. Plant Physiol.* 3, 763 769 (1976)

Espeche, C.M., Vizgarra, O.M., Tarulli, L., Araya, M., Mendez, D.E. y Ploper, L.D. 2019. EEAOC 169 ISSN 2346-9102.

Espinoza Montesinos, E. A. (2009). Evaluación de 16 genotipos seleccionados en dos densidades de siembra de frijol canario cv. Centenario (*Phaseolus vulgaris* L.) por su calidad y rendimiento en condiciones de costa central (No. F01 E7-T). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Peru). Escuela de Postgrado. Especialidad de Producción Agrícola.

FAO UTF ARG 017 (2015). Documento de Trabajo N° 4 Actividad Pecuaria en la provincia de Río Negro Proyecto FAO UTF ARG 017 Desarrollo Institucional para la Inversión

http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/rlc/utf017arg/rionegro/DT_04_Actividad_pecuaria.pdf

Fernández de Córdova, F., Gepts, P. L., & López Genes, M. (1986). Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Forsythe, W. (2002). Parámetros ambientales que afectan la temperatura del suelo en Turrialba, Costa Rica y sus consecuencias para la producción de cultivos. *Agronomía Costarricense*, 26(1), 42-61

Ganesan, K., & Xu, B. (2017). Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2331.

García P, Primo A (1993) Germinación de las semillas. En Fisiología y Bioquímica vegetal. 1a ed. McGraw Hill. Madrid, España.

Gonçalves, M., Correa, A., Destro, D., Ferreira, L. y Alves, T. 2003. Correlations and path analysis of common bean grain yield and its primary components. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 3 (3): 217-222

Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M., & Vanhatalo, A. (2018). Alternative and novel feeds for ruminants: nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal*, 12(s2), s295-s309.

Hernández Salido, L., & Salido García, Y. (2019). Influencia de la aplicación de Azofert inoculante a base Rhizobium en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) VAR. Delicias 364 en finca Juan Sáez. Manatí. Caribeña de Ciencias Sociales, (enero).

Herrera Rodríguez, T. (2016). Influencia del proceso de germinación en el contenido y biodisponibilidad de melatonina en semillas de legumbres.

Inalbon, M.R, y Valenzuela, A.M. (2005). Procedimientos analíticos para suelos normales y salinos. Técnicas de laboratorio de suelo y agua. EEA Saenz Peña-Chaco-Argentina. PA Revisión: 1

Ishag, H. M. (1973). Physiology of seed yield in field beans (*Vicia faba L.*): I. Yield and yield components. *The Journal of Agricultural Science*, 80(2), 181-189.

Jeffrey W. W. and Consuelo Montes, R. 1993. The Influence of Temperature on Seed Germination in Cultivars of Common Bean. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 44, No. 269, pp. 1795-1800.

Kapraelou, G., Martínez, R., Perazzoli, G., Sánchez González, C., Llopis, J., Cantarero, S., & Porres, J. M. (2020). Germination improves the polyphenolic profile and functional value of mung bean (*Vigna radiata L.*). *Antioxidants*, 9(8), 746.

Kermode AR. 1990. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. *Critical Reviews in Plant Science* 9:155-19

Khang DT, Dung TN, Elzaawely AA, Xuan TD. 2016. Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. *Foods* 27:2-10

Khang, D. T., Dung, T. N., Elzaawely, A. A., & Xuan, T. D. (2016). Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. *Foods*, 5(2), 27.

Kumar, V.; Sinha, A.K.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem.* 2010, 120, 945–959.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.

López Urbano, L. R., & Rosas Molina, M. L. (2014). Efecto del tiempo de germinación y tiempo de cocción, e influencia de la temperatura de secado en la actividad hemaglutinante de las lectinas en el tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*).

Maqueira-López, L. A., Roján-Herrera, O., Solano-Flores, J., & Milagros-Santana, I. (2021). Germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) a diferentes temperaturas. *Cultivos Tropicales*, 42(2).

Marchiori, A. G. Producción de porotos (*Phaseolus-vulgaris L.*): análisis de un establecimiento de la provincia de Jujuy (Bachelor's thesis).

Marolt, G., & Kolar, M. (2020). Analytical methods for determination of phytic acid and other inositol phosphates: A review. *Molecules*, 26(1), 174.

Martin, D. M. 2009. Información Técnica N° 27: Estadísticas climáticas del valle de Viedma. Año 4-N°9. E.E.A. Valle Inferior-Convenio Provincia de Río Negro-INTA

Martínez, R.S.; Chaves, H; Margiotta, F. 1996. Evaluación de rendimiento de poroto (*Phaseolus vulgaris L.*) bajo riego en el valle inferior del río Negro, Argentina. XIX Congreso Argentino de Horticultura.

Martínez, M. E. (2019). Contenido de hierro, calcio y magnesio durante el proceso de producción de germinados de lentejas (*Lens culinaris*) bajo cultivo aeropónico (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias).

Marcos Filho, J. Fisiología De Sementes De Plantas Cultivadas. Piracicaba: Fealq, 2005.

Masotta, H. T. (1970). Reconocimiento detallado de suelos con fines de riego en el área de influencia del canal secundario VII: valle inferior del Río Negro, Argentina. Instituto de Desarrollo del Valle Inferior del Río Negro, Estación Experimental de Riego y Cultivos.

Mbithi-Mwikya, S., Camp, J. V., Yiru, Y., & Huyghebaert, A. (2000). Nutrient and anti-nutrient changes in finger millet (*Eleusine coracana*) during sprouting. *LWT – Food Science and Technology*, 33, 9–14. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0605>

Meng, G.-T., & Ma, C.-Y. (2002). Thermal gelation of globulin from *Phaseolus angularis* (red bean). *Food Research International*, 35, 377–385.

Menniti, F.S.; Miller, R.N.; Putney, J.W.; Shears, S.B. Turnover of inositol polyphosphate pyrophosphates in pancreatoma cells. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 3850–3856.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (2021). Producción de legumbres en Argentina.

Mohamed, A., Perera, P., & Hafez, Y. (1986). New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chemistry*, 63(6), 475–478.

Moongnarm, A., & Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough and brown rice. *Food Chemistry*, 122, 782–788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.053>

Montoya, C. A., Lallès, J. P., Beebe, S., & Leterme, P. (2010). Phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, 43(2), 443-449.

Musi Saluj C. Características climáticas del Valle Inferior de Río Negro (2018) EEA Valle Inferior.

Nkhata, S. G., Ayua, E., Kamau, E. H., & Shingiro, J. B. (2018). Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food science & nutrition*, 6(8), 2446-2458.

Ohanenye, I. C., Tsopmo, A., Ejike, C. E., & Udenigwe, C. C. (2020). Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of Legume proteins. *Trends in Food Science & Technology*.

Ombra, M. N., d’Acierno, A., Nazzaro, F., Riccardi, R., Spigno, P., Zaccardelli, M., & Fratianni, F. (2016). Phenolic composition and antioxidant and antiproliferative activities of the extracts of twelve common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) endemic ecotypes of southern Italy before and after cooking. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Oomah, B.D., Corbé, A. and Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8225-8230.

Ortas, L. (2008). Cultivo del maíz: Aspectos generales de la competición del pádel y sus demandas fisiológicas. *AGON: International Journal of Sport Sciences*, 3(2), 60-67

Ortega, A., Moreno, G., & Díez, J. Fertilización de poroto para grano seco. (2008). En Melgar R y Díaz Zorita M. Fertilización de cultivos y pasturas. Ed. Hemisferio Sur. 2ª edición ampliada y actualizada. 569

Pascual, C. Y., & Esteban, M. M. (2002). La importancia alérgica de las legumbres. *Allergologia et immunopathologia*, 30(6), 346-353.

Pinchi Ramirez, M. H. (2009). Formación de poblaciones complejas superiores de cruces interespecíficos del género *Phaseolus* y su comportamiento en las zonas altoandinas del Perú.

Piñuel, M. L., Vilcacundo, E., Boeri, P. A., Barrio, D. A., Morales, D., Pinto, A., & Carrillo, W. (2019). Extraction of protein concentrate from red bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation.

Poblete, T., Rebolledo, K., Barrera, C., Ulloa, D., Valenzuela, M., Valenzuela, C., & González, C. (2020). Effect of germination and cooking on iron content, phytic acid and lectins of four varieties of chilean beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of the Chilean Chemical Society*, 65(4), 4937-4942.

Ramirez-Vallejo P., and J. D. Kelly. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99: 127-136.

Ramos de Vega, M., & Sangronis, E. (2006). Influencia de la germinación en la composición del *Phaseolus vulgaris* y *Vigna sinensis*. *Agronomía Tropical*, 56(4), 531-537.

Raya-Pérez, J. C., Gutiérrez-Benicio, G. M., Ramírez Pimentel, J. G., Covarrubias-Prieto, J., & Aguirre-Mancilla, C. L. (2014). Caracterización de proteínas y contenido mineral de dos variedades nativas de frijol de México. *Agronomía Mesoamericana*, 25(1), 01-11.

Reginatto, J. (2018). *Análisis económico-financiero del poroto como alternativa en la rotación de cultivos para la zona norte de la provincia de Córdoba* (Doctoral dissertation, Universidad Católica de Córdoba).

Reinoso, L. G. (2014). Rendimiento de maíz en el Valle Inferior del Río Negro: Evaluación de la frecuencia de riego y la fertilización nitrogenada.

Reyes Rivas, E., Padilla-Bernal, L. E., Pérez Veyna, O., & López-Jáquez, P. (2008). Historia, naturaleza y cualidades alimentarias del frijol. *Investigación Científica*, 4(3), 1-21.

Ribeiro, N., Hoffmann -Junior, L., Dobler, M. y Possebon, S. 2003. Genotype x environment interaction in common bean yield and yield components. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 3 (1): 27-34.

Salehi, M., Faramarzi, A. y Mohebalipour, N.2010. Evaluation of different effective traits on seed yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with path analysis. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 9 (1): 52-54

Samman N., Maldonado,S., Alfaro, M.E., Farfa'n, N., and Gutiérrez J. 1999. Composition of Different Bean Varieties (*Phaseolus vulgaris*) of Northwestern Argentina (Region NOA): Cultivation Zone Influence. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2685-2689

Sanchez, M. M. (2019). Inducción de metabolitos de interés nutracéutico en germinados de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el efecto de su consumo en un modelo de dislipidemia.

Sangronis, E., Machado, C., & Cava, R. (2004). Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Cajanus cajan*) germinadas. *Interciencia*, 29(2), 80-85.

Sangronis, E & Machado, C.J. 2005. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *Science direct LWT* 40 (2007) 116-120

Sangronis, E., & Machado, C. J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 116-120.

Sathe, S. K., Salunke, D. K., & Cheryan, M. (1984). Technology of removal of unwanted components of dry beans. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 21(3), 263-287.

Seba, N.; Doñate, M.T.; Hartmann, B.S.; Baffoni, P.; Muzi, E.; Cecchini, V., &

Bezic, C. 2017. Producción hortícola diversificada en el Valle Inferior del Río Negro. Modelos socio-productivos vigentes y su potencial para la intensificación ecológica. X Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales. Argentinos y Latinoamericanos. Bs. As.

Tajoddin, M., Manohar, S., & Lalitha, J. (2014). Effect of soaking and germination on polyphenol content and polyphenol oxidase activity of mung bean (*Phaseolus aureus* L.) cultivars differing in seed color. *International journal of food properties*, 17(4), 782-790.

Toledo, R. E. (2017). Bases ecofisiológicas para el manejo de poroto mung [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]

Uriyo, M. G. (2001). Changes in enzyme activities during germination of cowpeas (*Vigna unguiculata*, cv. California blackeye). *Food chemistry*, 73(1), 7-10.

Uwaegbute, A. C., Iroegbu, C. U., & Eke, O. (2000). Chemical and sensory evaluation of germinated cowpeas (*Vigna unguiculata*) and their products. *Food chemistry*, 68(2), 141-146.

Vijaylaxmi (2013): Biochemical changes in cotyledons of germinating mung bean seeds from summer and rainy seasons. *Indian Journal of Plant Physiology*, 18: 377–380.

Vizgarra, O.M., Ploper, D., Contreras Cuenca, P.D. y Ghio, A.C. 2006. *Revista Agroind de Tucumán*. 83 (1-2): 29-37.

Wang, S., Chao, C., Cai, J., Niu, B., Copeland, L., & Wang, S. (2020). Starch–lipid and starch–lipid–protein complexes: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(3), 1056-1079.

Winarsi, H., Septiana, A. T., & Wulandari, S. P. (2020). Germination improves sensory, phenolic, protein content and anti-inflammatory properties of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sprouts milk. *Food Research*, 4(6), 1921-1928.

Wahid, N., & Bounoua, L. (2013). The relationship between seed weight, germination and biochemical reserves of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Morocco. *New Forests*, 44(3), 385–397

Xue, Z., Wang, C., Zhai, L., Yu, W., Chang, H., Kou, X., & Zhou, F. (2016). Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vigna radiata* L.), soybean (*Glycine max* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(1), 68-78.

Yang, Q. Q., Gan, R. Y., Ge, Y. Y., Zhang, D., & Corke, H. (2018). Polyphenols in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Chemistry, analysis, and factors affecting composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1518-1539.

Zubillaga M.F; Keil, A., Aramburu, M., Gallego, J.J. 2020. Ensayo comparativo de rendimiento de poroto como alternativa proteica para alimentación animal en la Patagonia Norte