

EFFECTO DE FACTORES ANTINUTRICIONALES EN EL PEJIBAYE (*Bactris gasipaes*) SOBRE EL METABOLISMO DE RATAS JOVENES¹

Georgina Gómez²/*, Silvia Quesada*, Clara I. Nanne*

RESUMEN

Se estudió la presencia de lectinas e inhibidores de tripsina en pejibaye (*Bactris gasipaes*), consideradas factores antinutricionales por el efecto negativo que ejercen en la digestión y absorción de proteínas de la dieta. Las determinaciones se hicieron en extractos de pejibaye entero cocido, entero crudo y sus partes (pulpa, cáscara y semilla). Los resultados mostraron la presencia de una lectina que aglutina específicamente eritrocitos de carnero; y de otra en extracto de semilla, que aglutina inespecíficamente eritrocitos humanos del sistema ABO y eritrocitos de carnero, conejo y caballo. Se determinó además, la existencia de un inhibidor de tripsina en la cáscara del fruto, que disminuye la actividad de la enzima en un 53.7%. El efecto de los factores antinutricionales presentes en el pejibaye se midió sobre algunos parámetros bioquímicos de machos de 30 días de nacidos, a los que se les suministró extractos acuosos de pulpa, cáscara, semilla, y pejibaye entero tanto crudo como cocido. Los extractos se suministraron como bebida durante 6 semanas consecutivas; se hicieron determinaciones semanales de los niveles séricos de glucosa, triglicéridos, colesterol, proteínas totales y fraccionadas, hematocrito y hemoglobina. No hubo diferencias significativas entre diferentes grupos en los valores de las determinaciones séricas que se analizaron, sin embargo, se observó un menor aumento en la concentración de glucosa en animales que consumieron extractos de pejibaye crudo en comparación con los que ingirieron cocido, y una disminución del 8.3% de los triglicéridos, en los que consumieran extracto de pulpa, junto con un aumento en colesterol.

ABSTRACT

The effect of peach palm (*Bactris gasipaes*) antinutritional factors in young mice metabolism. The presence of lectins and trypsin inhibitors in the fruit of pejibaye (*Bactris gasipaes*) was studied. These substances have been considered antinutritional factors due to their negative effect on the digestion and absorption of proteins from the diet. The determinations were made in extracts of the whole fruit cooked and raw and their components (pulp, skin and seed). A lectin that agglutinates specifically sheep erythrocytes was found in the pulp, another that agglutinates inespecifically human erythrocytes and also sheep, rabbit and horse erythrocytes was detected in the seed. A trypsin inhibitor that reduces 53.7% the enzyme activity was found in the skin of the fruit. In order to determine the effect of the antinutritional factors over some biochemical parameters, aqueous extracts of the pulp, skin seed, and the whole fruit cook and raw, were given to male rats 30 days of age. The extracts were given dissolved in the drinking water for 6 weeks. During this period of time, weekly serum determinations of glucose, triglycerides, cholesterol, total and fraction proteins, hematocrit and hemoglobin were performed. Significant differences between the groups on the values of the seric determinations were not found, even though there was a decrease of 8.3% of the triglycerides in the animals consuming pulp extract. This decrease on the seric concentration of triglycerides was accompanied by an increment in the seric cholesterol value on this group of animals.

1/ Recibido para publicación el 6 de febrero de 1998.
2/ Autora para correspondencia.

* Departamento de Bioquímica, Escuela de Medicina.
Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

INTRODUCCION

Los factores antinutricionales se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se definen como sustancias de naturaleza no fibrosa, que al ser ingeridas pueden interferir con la utilización de los nutrientes, afectando el crecimiento y la salud de los animales (Jaffé 1980, Martínez y Larralde 1984).

Los compuestos tales como lectinas e inhibidores enzimáticos, presentes en muchos alimentos de origen vegetal, se identifican como factores antinutricionales que ocasionan, en algunas circunstancias, serias implicaciones en la salud de los individuos o de los animales (Huissman 1992, Ryan 1981). Estas sustancias pueden inhibir enzimas digestivas, dañar la mucosa intestinal o modificar los nutrientes obstaculizando de esta manera su absorción (Alfaro 1988, Figueroa 1984).

Las lectinas se encuentran ampliamente distribuidas en los tejidos vegetales, y son particularmente abundantes en semillas, donde llegan a constituir hasta el 10% de las proteínas totales. También se ha localizado lectinas en hojas, tallos, raíces y cortezas, en menores cantidades que las reportadas en semillas (Lis y Nathan 1981, Sousa 1995).

Las lectinas más estudiadas son componentes celulares solubles, mientras que otras están ligadas a la membrana citoplasmática (Rini 1995, Sousa et al. 1995, Spilatro 1996). Estas sustancias son proteínas o glicoproteínas, de origen no inmunológico, formadas por más de una subunidad proteica, que se caracterizan por ligar carbohidratos o glucoconjugados con alta especificidad, uniéndose de manera reversible sin alterar su estructura covalente. Lo anterior se evidencia por su capacidad de aglutinar eritrocitos (Rini 1995, Sousa et al. 1995). Su efecto primario como factores antinutricionales se relaciona con el hecho de que se unen a la mucosa de la pared intestinal, y alteran su capacidad de absorber nutrientes (Jaffé 1980).

Las lectinas han sido implicadas en efectos tóxicos y en la disminución en la tasa de crecimiento observada al alimentar animales de laboratorio con plantas o semillas comestibles que contienen la lectina cruda (Figueroa 1984).

Este efecto, es eliminado generalmente por medio de un tratamiento térmico adecuado; sin embargo, en la práctica no siempre se alcanza la destrucción completa del efecto tóxico de la lectina (Figueroa 1984, Peñate 1987).

Los inhibidores de tripsina son polipéptidos o proteínas capaces de inhibir la acción catalítica de esta enzima. Se ha detectado su presencia en las células de casi todas las formas de vida, principalmente como componentes del citoplasma, secreciones y fluidos intercelulares de muchos órganos y tejidos. En las plantas se concentran principalmente en la semilla, tubérculos, raíces y hojas. La mayoría de los inhibidores son específicos para serin endopeptidasas, como la tripsina, quimotripsina y elastasa, y otras enzimas con especificidad similar (Huissman 1992, Ryan 1981).

Se ha observado que la actividad de algunos de estos inhibidores, así como su efecto biológico se reduce al ser sometidos a procesos de cocción; tal es el caso de los inhibidores presentes en el frijol común, frijol de soya y pejibaye (Levy 1985, Murillo y Kroneberg 1983, Peñate et al. 1987).

La función fisiológica de los inhibidores de proteasas puede ser, entre otras, de regulación o de protección. Su papel en la protección de la planta se deriva del hecho de que los inhibidores van dirigidos a proteasas presentes en animales y microorganismos, y solo unos cuanto contra proteinasas de otras plantas, lo que sugiere un mecanismo de defensa contra plagas y depredadores (Kalume 1995).

Diversos estudios que han evaluado la utilización de harina de pejibaye para el consumo animal, han reportado pérdida de peso y baja conversión alimenticia en los animales que consumen el pejibaye crudo (Alfaro 1988, Gómez et al. 1998, Murillo et al. 1991). Murillo y colaboradores (1991), determinaron la existencia de un inhibidor de tripsina como principal responsable de estos efectos adversos. Sin embargo, no se descarta la presencia de otros factores antinutricionales que afecten negativamente la nutrición de estos animales (Murillo et al. 1991).

En el presente estudio se determinó la presencia de factores antinutricionales del pejibaye

(lectinas e inhibidores de tripsina, específicamente) y su localización en el fruto, así como el efecto de estas sustancias sobre diferentes parámetros bioquímicos y hematológicos de ratas jóvenes.

MATERIALES Y METODOS

Preparación del extracto de pejibaye

El procedimiento de preparación de los extractos se describe en el artículo anterior (Gómez et al. 1998).

Determinación de la actividad hemaglutinante

En una placa de microtitulación se mezclaron 100 μ l de cada extracto con 50 μ l de eritrocitos al 5% (humanos: del sistema ABO Rh+; de carnero; de conejo y de caballo). Luego de 1 h a temperatura ambiente se realizó la lectura de aglutinación correspondiente (Nanne 1991).

Para definir los ligandos específicos de la aglutinación, se realizaron pruebas de inhibición de la actividad hemaglutinante utilizando 100 μ l de extracto a los cuales se les agregó 100 μ l de solución de carbohidratos a una concentración 0.1 M. Luego de incubar 1 h a temperatura ambiente se añadieron 50 μ l de eritrocitos de carnero al 5%. La lectura se realizó luego de 1 h de incubación a temperatura ambiente (Nanne 1991).

Los carbohidratos utilizados para las pruebas de inhibición de la hemaglutinación fueron los siguientes: D-Galactosa, D-Fructosa, Sacarosa, D-Manosa, D-Xilosa, Dulcitol, D-Glucosa, Inositol, Lactosa, Manitol, Raffinosa, L-Ramnosa, Sorbitol, Sorbosa, Trehalosa, N-acetil glucosamina y N-acetil manosamina.

Determinación de la actividad antitripsina

De acuerdo al método propuesto por Kakade y colaboradores (1969), se determinó la actividad antiproteasas en los diferentes extractos, utilizando como enzima a la tripsina y como sustrato el Benzoil

DL-arginina-p-nitro anilide (BAPA), que es un sustrato sintético de la tripsina. Para esto se utilizó 0.25 ml de cada extracto con una concentración de 2 mg de proteína/ml que se adicionaron a 1.75 ml de BAPA (30 mg de BAPA disueltos en 1 ml de dimetil sulfóxido y llevados a 100 ml con buffer 0.05 M de TRIS pH 8.2), y 0.25 ml de tripsina (0.005% de tripsina en HCl 1 mM). Para cada uno de los tubos se preparó un blanco, al cual se agregó 0.25 ml de ácido acético al 30% antes de agregar la enzima. Luego de 10 min de incubación a 37°C se detuvo la reacción con 0.25 ml de ácido acético al 30% y se determinó el producto de la reacción al medir la absorbancia de cada tubo a 410 nm. El patrón de 100% de actividad de tripsina se preparó utilizando la misma cantidad de enzima y de sustrato, y agregando agua en lugar del extracto respectivo.

El porcentaje de inhibición de cada extracto se calculó utilizando la siguiente fórmula (Hartman 1995):

$$\% \text{ Inhibición} = \left[100 - \frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs Patrón}} \right] \times 100$$

La inhibición de la actividad de tripsina se expresó también en Unidades de Tripsina Inhibidas (TUI), las cuales se calculan de la siguiente manera (Hartman 1995):

$$\text{TUI} = [\text{Abs Muestra} - \text{Abs Blanco}] \times 100$$

Ensayo biológico

En el ensayo biológico se utilizaron 36 ratas macho, de la especie *rattus-rattus*, cepa Sprague-Dawley, suministradas por la Unidad de Bioterios de la Universidad de Costa Rica, con edades comprendidas entre 28 y 33 días de nacidas, y con un peso aproximado de 80 \pm 15 g al inicio del experimento.

El extracto de la fracción de pejibaye, se suministró como agua de bebida y su ingesta, así como el consumo de alimentos, se mantuvo *ad libitum* durante las 6 semanas del estudio. Los animales se trabajaron en 6 grupos de 6 animales cada uno, a los cuales se les suministró los siguientes extractos: 1) pejibaye entero cocido; 2) pejibaye entero crudo; 3)

pulpa; 4) cáscara; 5) semilla y 6) agua (grupo control) (Gómez et al. 1998).

Los animales fueron sometidos, una vez por semana, a un período de ayuno de 14 h. Previa anestesia con éter, les fueron extraídos de la cola aproximadamente 800 µl de sangre. Se realizaron análisis por duplicado de los siguientes parámetros bioquímicos: hematocrito, hemoglobina, proteínas totales y fraccionadas, colesterol, triglicéridos, y glucosa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los factores antinutricionales analizados en este estudio fueron el inhibidor de tripsina y las lectinas. Ambas sustancias se caracterizan por presentar un efecto depresivo sobre la digestión y utilización de las proteínas (Huisman 1995).

Lectinas

En este estudio se demostró la presencia de lectinas al medir la actividad hemaglutinante en la pulpa y la semilla del fruto de pejibaye, no así en la cáscara. La lectina presente en la pulpa de pejibaye aglutina únicamente eritrocitos de carnero, mientras que la lectina presente en la semilla, tiene la capacidad de aglutinar los eritrocitos humanos del sistema ABO y los eritrocitos de caballo, carnero y conejo (Cuadro 1).

Este poder aglutinante de las lectinas de la pulpa y la semilla de pejibaye se determinó mediante la titulación de la hemaglutinación para ambas muestras, utilizando en ambos casos eritrocitos de carnero, y se determinó que la lectina pre-

sente en la pulpa del pejibaye mantiene su actividad hasta una concentración de 0.25 mg/ml, mientras que la lectina de la semilla aglutina los eritrocitos únicamente en una concentración de 2 mg/ml. De lo anterior se deduce que la lectina presente en la pulpa de pejibaye muestra mayor afinidad por los carbohidratos de la superficie de estas células, mientras que la lectina de la semilla tiene una actividad menor y no muestra especificidad por ninguno de los fenotipos del sistema ABO o por eritrocitos de carnero, conejo o caballo.

Ninguno de los carbohidratos estudiados inhibió la actividad hemaglutinante de la lectina de la pulpa o de la semilla, por lo que no fue posible identificar los ligandos específicos en la superficie de la membrana de los eritrocitos con los cuales establece contacto la lectina.

Tripsinas

Al evaluar la actividad de la tripsina en presencia de los diferentes extractos de pejibaye, se demostró una inhibición de más del 50% con el extracto de cáscara de pejibaye, y del 5.8 y 6.7% con los extractos de pejibaye entero crudo y semilla, respectivamente. Por el contrario, con los extractos de pejibaye entero cocido y de pulpa, se evidencia una estimulación de la actividad proteolítica de la tripsina, presentando un aumento del 38% con el extracto de pejibaye cocido y de un 36% con el extracto de pulpa (Figura 1).

Los datos sugieren que el inhibidor de tripsina se localiza principalmente en la cáscara del fruto, y que se destruye con el calor; lo que concuerda con lo reportado por Murillo y colaboradores (1983), quienes detectaron actividad

Cuadro 1. Actividad aglutinante de la lectina presente en diferentes extractos de pejibaye sobre distintos tipos de eritrocitos.

Extracto	Eritrocitos humanos (Rh+)			Eritrocitos de animales		
	A	B	O	Carnero	Caballo	Conejo
Cocido	-	-	-	-	-	-
Crudo	±	-	±	±	-	-
Pulpa	-	-	-	+	-	-
Cáscara	-	-	-	-	-	-
Semilla	+	+	+	+	+	+

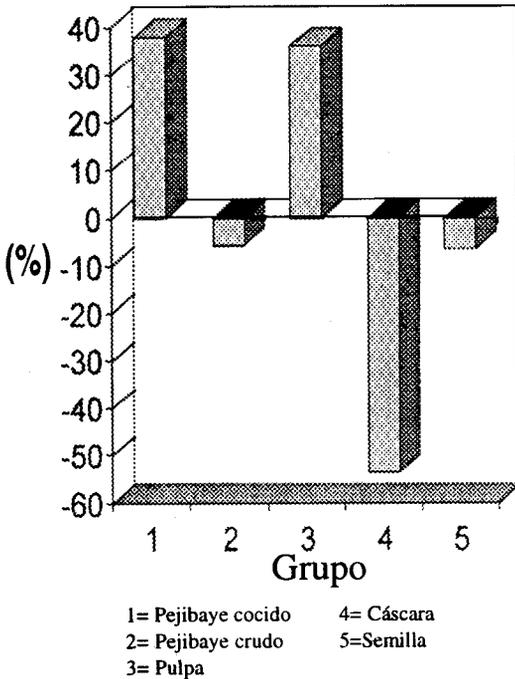


Fig. 1. Porcentaje de inhibidores/estimulación de extractos de pejibaye sobre la actividad de la tripsina.

inhibitoria de la tripsina en extractos acuosos de pejibaye, efecto que desaparecía al someter el extracto a tratamiento térmico.

Fernández y colaboradores (1991) observaron características similares de termolabilidad de inhibidores de tripsina en el frijol de soya. Observaron una inhibición del 100% de la actividad de la enzima en harina de frijol de soya cruda, la cual se reduce a un 24% al someter la harina a un proceso térmico. En este caso se utilizó el calentamiento por microondas. Asimismo, Blanco y colaboradores (1986) demostraron que la actividad antitripsínica del frijol común (*Phaseolus vulgaris*), se reduce hasta un 73% con la cocción de la leguminosa.

Como se observa en el Cuadro 2, las unidades de tripsina inhibidas (TUI) con el extracto de cáscara de pejibaye y de semilla, fueron de 42.1 y 13.5 respectivamente; lo cual indica que el inhibidor de tripsina se localiza principalmente en la cáscara del fruto y en menor proporción en la semilla. Al evaluar la actividad inhibitoria del pejibaye entero crudo se observa que no exis-

te un efecto sumatorio de la inhibición entre ambas partes del fruto, sino más bien, que este efecto se reduce a 4.7 TUI, lo que puede ser explicado por la presencia de los factores presentes en la pulpa, que estimulan la actividad de la tripsina.

Kakade (1969) reporta una actividad antitripsínica en frijol de soya de 40.2 TUI, la cual fue determinada utilizando la misma metodología que la utilizada en este estudio. Este valor es similar al observado en este estudio en el extracto de cáscara de pejibaye. Así mismo, Levy y colaboradores (1985), informaron una actividad inhibitoria de 21 y 64 TUI para el *Phaseolus vulgaris* y el *Phaseolus lunatus* respectivamente, lo que confirma el poder inhibitorio de la cáscara de pejibaye al compararla con el de otras fuentes.

Se ha reportado que los inhibidores de tripsina disminuyen el crecimiento en los animales, pueden disminuir la digestión y absorción de nutrientes, afectan el crecimiento y el desarrollo de los animales, y ocasionan además intoxicaciones agudas y algunas veces la muerte (Figueroa et al. 1991, Gómez et al. 1998, Martínez et al. 1984).

Cuadro 2. Unidades de tripsina inhibidas por los extractos de pejibaye.

Extracto	Unidades de tripsina inhibidas
Pejibaye entero crudo	4.7
Cáscara	42.7
Semilla	13.5

Los valores de los diferentes parámetros bioquímicos no presentaron variaciones importantes entre los diferentes grupos, sin embargo, se pudo observar que al finalizar el estudio, en todos los grupos la glucosa sanguínea había aumentado con respecto a la primera semana (Figura 2). Este aumento sin embargo, fue menor entre los animales que consumieron el extracto de pejibaye crudo y sus partes.

Figueroa y colaboradores (1984) al alimentar ratas con dietas con un 1% de lectina de frijol común, una concentración mucho mayor a la utilizada en este estudio, lograron observar una disminución significativa en la glicemia de los animales que consumieron la lectina, y atribuye

este fenómeno, a una alteración de la actividad de la maltasa e invertasa, 2 enzimas asociadas a la mucosa intestinal e involucradas en la digestión de los carbohidratos.

Esto reafirma la posibilidad de que las lectinas participen bloqueando la absorción de nutrientes al actuar directamente sobre enzimas digestivas. De esta manera afectarían el crecimiento de los animales que las consumen.

Se observó una disminución en las concentraciones séricas de triglicéridos encontrada en el grupo de animales que ingirió el extracto de pulpa; y un incremento en la concentración de colesterol en todos los grupos estudiados (Figura 3). Este efecto puede deberse a la lectina detectada en este extracto, o a la presencia de algún otro factor termolábil.

Resultados similares han sido reportados por Chandrasiri y colaboradores (1990), quienes encontraron una disminución de los triglicéridos en ratas Wistar que consumieron durante 6 semanas una dieta con un 10% de proteína de soya, y luego de este periodo evidenciaron una disminución en los niveles sanguíneos de triglicéridos, al compararlas con ratas que consumieron un 10% de caseína. Los autores concluyen que este efecto puede deberse a la presencia de sustancias antinutricionales termolábiles, o al contenido de fibra presente en el frijol de soya.

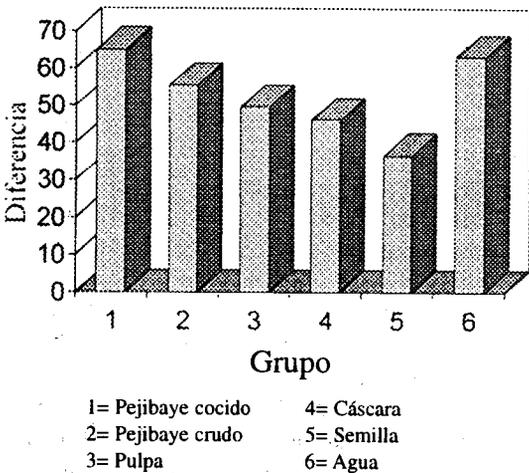
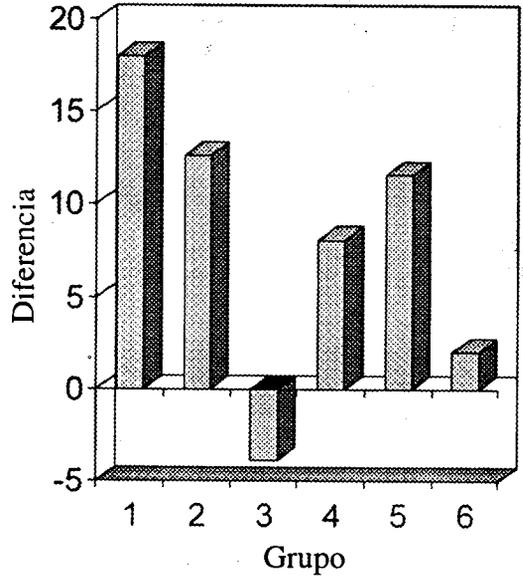


Fig. 2. Diferencia entre el valor de glicemia inicial y final de ratas sometidas a la ingesta de extractos de pejibaye.



1= Pejibaye cocido 4= Cáscara
 2= Pejibaye crudo 5= Semilla
 3= Pulpa 6= Agua

Fig. 3. Diferencia entre los valores de triglicéridos sanguíneos iniciales y finales de ratas sometidas a la ingesta de extracto de pejibaye.

AGRADECIMIENTO

A la Sra. Ana Lorena Torres y a la estudiante Adriana Bolaños por su colaboración en el estudio y al Ing. Carlos Arroyo del Banco de Germoplasma "Los Diamantes", por proveer el pejibaye para la investigación.

LITERATURA CITADA

ALFARO, Y. 1988. Elaboración de harina de pejibaye (*Bac- tris gasipaes* H. B. K.) para consumo animal. Tesis Licenciatura en Tecnología de Alimentos. San José, Universidad de Costa Rica. 128 p.

BLANCO, A.; NAVARRETE, D.; BRESSANI, R.; BRA- HAM, J.; GOMEZ-BRENES, R.; ELIAS, L. 1986. Composición química y evaluación de la calidad de la proteína del frijol en humanos adultos por el método de balance nitrogenado de corto tiempo. Arch. Latinoam. Nutr. 26: 80-97.

- BRADFORD, M. 1976. A rapid method for quantification of microgram quantities of protein utilization of the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- CHANDRASIRI, V.; BAU, H. M.; GIANNAGELLI, F.; MEJEAN, L. 1990. Effects of germinated and heated soybean meals on plasma cholesterol and triglycerides in rats. *Reprod. Nutr. Dev.* 30: 611-618.
- FERNANDEZ, J.; GUERRA, M. J.; RACCA, E. 1991. Precocción de harina de soya y maíz por microonda, y su uso en la preparación de arepas. *Arch Latinoam. Nutr.* 61: 09-421.
- FIGUEROA, M.; MANCINI, J.; LAJOLO, F. 1984. Aco anti-nutricional das fito-hemaglutininas de *Phaseolus vulgaris*, L. *Arch. Latinoam. Nutr.* 24: 488-499.
- GOMEZ, G.; VARGAS, R.; QUESADA, S. 1998. Crecimiento y conversión alimenticia de ratas Sprague-Dawley sometidas a la ingesta de extractos acuosos de pejibaye (*Bactris gasipaes*). *Agronomía Costarricense* 22 (2): 185-190.
- HARTMAN, A. 1995. Der nachweis von Trypsin und Cathepsin D-Inhibitoren infr die versuchstierernährung bestimmten einzel und alleinfuttermitteln. Tesis Doctorado en Medicina Veterinaria, Alemania Freien Universitt Berlin. p. XX
- HUISMAN, J. 1992. Aspects of antinutritional factors (ANFs) in relation to nutrition and pollution. *Proceeding 19th World's Poultry Congress. Amsterdam Set 1992.* 3 Vol. Wageningen, Ponsen & Looijen. 2371 p.
- JAFFE, W.G., 1980. Emagglutinin. *In: Toxic constituents of plant foodstuff.* Ed. by I.E. Liener. New York, U.S.A., Academic Press. p. 73-102.
- KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. 1969. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 46: 518-526.
- KALUME, D.; SOUSA, M.; MORHY, L. 1995. Purification, characterization, sequence determination and mass spectrometric analysis of a trypsin inhibitor from seeds of the brazilian tree *Dipteryx alata* (*Leguminosae*) *Journal of Protein Chemistry* 14: 685-693.
- LEVY, A.; De STEIN, R.; MARQUEZ, C.; JAFFE, W. 1985. El valor bioquímico y nutricional de las semillas del haba de lima (*Phaseolus lunatus*) en comparación con las de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Latinoam. Nutr.* 25: 70-79.
- LIS, H.; NATHAN. S. 1981. Lectins in higher plants. *In: The biochemistry of plants.* Ed. by M.D. Hatch and N.K. Boardman New York, U.S.A. Academic Press. p. 371-446.
- MARTINEZ, J. A.; LARRALDE, J. 1984. Developmental changes on protein turnover in growing rat fed on diets containing field beans (*Vicia faba* L.) as a source of protein. *Arch. Lat. Nutr.* 34: 465-476.
- MURILLO, M.; KRONEBERG, A. 1983. Estudio de la harina de pejibaye (*Guillielma gasipaes*) como sustituto en la alimentación animal. *Agronomía y Ciencia* 1: 24-27.
- MURILLO, M.; KRONEBERG, A.; MATA, J.; CALZADA, J. G. 1983. Estudio preliminar sobre factores inhibidores de enzimas proteolíticas en la harina de pejibaye (*Bactris gasipaes*). *Rev. Biol. Trop.* 31: 227-231.
- MURILLO, M.; ZUMBADO, M.; COOZ, A.; ESPINOZA, A. 1991. Evaluación de la harina de pejibaye (*Bactris gasipes*) en la dieta para pollas de reemplazo durante el período de iniciación y en gallinas ponedoras al inicio de la postura. *Agronomía Costarricense* 15 (1/2): 135-141.
- NANNE, C. I., ARAGON, F. 1991. Aislamiento, purificación y caracterización de una lectina de la semilla del poró (*Erythrina costaricensis*). *Rev. Biol. Trop.* 39: 15-21.
- PEÑATE, M.; BENCOMO, A.; SAMPERE, E.; FARRAS, I.; HERNANDEZ, M.; PORRATA, C.; PONCE de LEON, I. 1987. Evaluación nutricional de las semillas de ipil-ipil (*Leucaena leucocephala*), casco de vaca (*Bauhinia monandra*) y algarrobo de olor (*Albizia lebbek*). *Arch. Lat. Nutr.* 38: 956-964.
- RINI, J. M. 1995. Lectin structure. *Annu. Rev. Biomol. Struct.* 24: 551-77.
- RYAN, C. A. 1981. Proteinase inhibitors. *In: The biochemistry of plants.* Ed by M.D. Hatch and N.K. Boardman New York, U.S.A. Academic Press. p. 351-367.
- SOUSA, B.; AZEVEDO, R.; ABREU, J.; BARBOZA, T. 1995. Primary structure and functions of plant lectins. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 5: 193-201.
- SPILATRO, S.; COCHRAN, G. R.; WALKER, R.E.; CABLISH, K. L.; BITTNER, C. 1996. Characterization of a new lectin of soybean vegetative tissues. *Plant Physiol.* 110: 825-834.