

## Estudio electroforético de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformis*

Ligia Ortiz de Bertorelli y Alejandra Ramírez

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

**RESUMEN.** Para el estudio de las albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*, se utilizaron la electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida (PAGE) y la electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS). En la PAGE, la concentración de acrilamida usada en el gel superior fue 4.0% con un pH de 6,7 y en el gel inferior se utilizó 7,5% y 10% de acrilamida con un pH de 8,9. En la PAGE-SDS se empleó 4,4% de acrilamida con un pH de 6,8 en el gel superior y 7,5% y 12,6% de acrilamida con un pH de 8,8 en el gel inferior. Los materiales estudiados fueron los genotipos venezolanos Tovar, Yaracuy, Original y U-02. Las albúminas y globulinas fueron extraídas con solución de NaCl 0,5M y luego separadas por diálisis contra agua y liofilizadas. Estas fracciones proteicas representaron 84,85% de la proteína total de la semilla. Las albúminas fueron separadas en PAGE al 7,5% de acrilamida en cinco componentes y las globulinas en seis, siendo los patrones electroforéticos semejantes entre los genotipos analizados. Así mismo, los patrones PAGE al 10% de acrilamida fueron iguales en todos los genotipos, presentando las albúminas cinco bandas y las globulinas tres. Con PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida, las albúminas fueron separadas hasta en ocho componentes y las globulinas hasta en siete bandas con movilidades entre 0,2981 y 0,9932, obteniéndose patrones diferentes para cada genotipo. Igualmente, los patrones PAGE-SDS al 12,6% de acrilamida fueron distintos para los genotipos, separándose las proteínas en mayor número de bandas. Las albúminas mostraron hasta veintiuna bandas con movilidades entre 0,2603 y 0,7398 y las globulinas hasta dieciséis bandas con movilidades entre 0,2454 y 0,7390. Los patrones PAGE de los genotipos de *Canavalia ensiformis* analizados no se distinguieron entre sí. En cambio con la PAGE-SDS se obtuvieron patrones electroforéticos distintos que variaron en el número e intensidad de las bandas, permitiendo diferenciar los genotipos estudiados. El peso molecular de las albúminas varió entre 76.000 y 12.000 daltones y el de las globulinas entre 80.000 y 12.000 daltones.  
**Palabras clave:** *Canavalia*, albúminas, globulinas, electroforesis.

**SUMMARY.** Electrophoretic study of albumins and globulins of four genotypes of *Canavalia ensiformis*. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and PAGE-SDS were used to study seed albumins and globulins of *Canavalia ensiformis*. In PAGE the concentration of acrylamide used in the upper gel was 4.0% with a pH of 6.7 and in the lower gel 7.5% and 10% of acrylamide were used with a pH of 8.9. In PAGE-SDS the concentration of acrylamide was 4.4% with a pH of 6.8 in the upper gel and 7.5% and 12.6% with a pH of 8.8 in the lower gel. The material used were the Venezuelan genotypes Tovar, Yaracuy, Original and U-02. The albumins and globulins were extracted with a 0.5 M NaCl solution and then separated by dialysis against water and lyophilized. These protein fractions represented 84.85% of the total amount of protein in seeds. The albumins were separated in PAGE with 7.5% acrylamide into five fractions and globulins into six, with similar electrophoretic patterns between genotypes. In a similar manner, the patterns obtained in PAGE with 10% acrylamide were the same for all genotypes, showing five bands for albumins and three bands for globulins. With PAGE-SDS containing 7.5% of acrylamide, albumins were separated into as many as eight components, and globulins into as many as seven bands with mobilities between 0.2981 and 0.9932, with different patterns for each genotype. Also the patterns PAGE-SDS at 12.6% of acrylamide were different for the genotypes, separating proteins into a greater number of bands. The albumins showed as many as twenty-one bands with mobilities between 0.2603 and 0.7398, and globulins as many as sixteen bands with mobilities between 0.2454 and 0.7390. The PAGE patterns of the genotypes analyzed did not show differences between them. However, with PAGE-SDS different electrophoretic patterns were obtained which varied in the number and intensity of the bands, making it possible to distinguish the genotypes studied. The molecular weight of the albumins varied between 76,000 and 12,000 daltons and of the globulins between 80,000 and 12,000 daltons.

**Key words:** *Canavalia*, albumins, globulins, electrophoresis.

### INTRODUCCION

La *Canavalia ensiformis* es una leguminosa con gran potencial para ser usada en la alimentación humana y animal, debido a los altos rendimientos que se obtienen en su cultivo (1,2), a su contenido de proteína, el cual varía entre 26% y 33% (3-5) y a que es una rica fuente de energía y de vitaminas. Sin embargo, su utilización como recurso alimenticio está

limitado por la baja digestibilidad de sus proteínas y por la presencia de factores antinutricionales, entre ellos, la concanavalina A y la canavanina (2,5,6).

Sobre estos componentes se han realizado diversas investigaciones que han comprendido estudios de las propiedades físicas, químicas y fisiológicas (3,7,8), así como la destoxificación (5,9,10).

Las proteínas más abundantes en la *Canavalia ensiformis*

son las globulinas, que comprenden el 45% del contenido proteico total, seguidas por las glutelinas que representan el 23% y las albúminas el 14%, mientras que las prolaminas están ausentes o en muy bajas concentraciones. La proporción aproximada, en que se encuentran en las semillas de *Canavalia* estas tres fracciones proteínicas, es 1:3:2 (albúminas: globulinas: glutelinas), proporción que también ha sido observada en otras leguminosas (5).

Estudios electroforéticos han demostrado que las albúminas y globulinas son proteínas complejas, constituidas por diversos componentes. Al aplicar electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida al 10% con dodecilsulfato de sodio (PAGE-SDS), las albúminas de la *Canavalia ensiformis* del genotipo Original, fueron separadas en dieciséis bandas polipeptídicas, en las que predominaron las de bajo y mediano peso molecular (5). Por otra parte, Chacón (3) usando PAGE-SDS con 15% de acrilamida, separó las albúminas de diferentes especies de *Canavalia* en catorce y dieciocho bandas y las globulinas entre ocho y quince, dependiendo de la especie. En cambio, por electroforesis en medio no disociante, sólo observó una densa franja en la parte superior del gel en ambas fracciones proteicas de las especies de *Canavalia* analizadas. Estas especies fueron: *Canavalia ensiformis*, *Canavalia brasiliensis*, *Canavalia dictyota*, *Canavalia bicarinata*, *Canavalia plagiosperma* y *Canavalia gladiata*.

En Venezuela, al igual que en otros países, existe un gran interés por utilizar esta leguminosa como fuente alimentaria y con este propósito se han realizado exitosamente, estudios de mejoramiento que han llevado al desarrollo de genotipos con buenas propiedades agronómicas. Sin embargo, para su aplicación en la alimentación humana y animal es necesario conocer, entre otros factores, las características de las proteínas de las semillas de las cuales se tiene poca información. Por esta razón, el objetivo de este estudio consistió en extraer y caracterizar, mediante técnicas electroforéticas, las albúminas y globulinas de las semillas de genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*, lo cual reviste gran importancia en los programas de mejoramiento y taxonómicos.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Se analizaron las proteínas de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis* desarrollados en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela: Tovar, Yaracuy, Original y U-O2.

### Métodos

**Preparación de las harinas:** Las semillas fueron lavadas con agua y dejadas secar durante una noche a 37°C en una estufa con aire forzado. Luego fueron molidas en un molino Cyclone Sample Mill, equipado con una malla de 0,5mm de diámetro. La harina fue desgrasada con éter de petróleo en una relación 1:3 (p/v) a temperatura ambiente.

**Extracción de las proteínas:** Las albúminas y globulinas fueron extraídas de la harina desgrasada con solución de NaCl 0,5M en una relación 1:5 (p/v), agitando por 1h a 4°C.

**La extracción fue repetida en una relación 2:5 (p/v):** Los extractos recolectados fueron dializados contra agua destilada por 48h. Las globulinas precipitadas fueron separadas de las albúminas por centrifugación. Ambas fracciones proteicas fueron liofilizadas y almacenadas a 4°C (11-13).

### Análisis de las proteínas

**Nitrógeno:** El método aplicado fue el Micro-Kjeldahl (14) y el contenido de proteína fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por 6,25.

**Electroforesis discontinua:** La electroforesis, en gel en tubo, fue realizada en un aparato Shandon, equipado con una fuente de poder Vokan. Las dimensiones de los tubos de vidrio fueron: 7,5cm de largo y 5,0mm de diámetro interno. La electroforesis fue iniciada con una corriente constante de 1mA por tubo de gel y al llegar la muestra al gel inferior, la corriente fue aumentada a 3mA por tubo de gel. El teñido de las proteínas fue realizado con una solución de azul de coomassie al 25% y para el desteñido de los geles fue usada una solución de ácido acético al 75% con metanol al 5% (15). La movilidad relativa (MV) de los componentes fue calculada mediante la ecuación usada por Weber y Osborn (16). Los resultados corresponden al promedio de tres determinaciones.

$$MV = \frac{\text{Distancia migración proteína} \times \text{Longitud del gel teñido}}{\text{Longitud gel desteñido} \times \text{Distancia migración colorante}}$$

**En gel de poliacrilamida (PAGE):** Las proteínas fueron disueltas con una solución de buffer TRIS (hidroximetilaminometano) al 0,12% con pH 6,7, manteniéndolas a 40°C por 24h. El gel superior o gel concentrador fue preparado con acrilamida al 4% y pH 6,7. El gel inferior o gel de desarrollo al 7,5% y 10% de acrilamida y pH 8,9. La relación usada de BIS (metilen bis acrilamida) a acrilamida fue 1:37 (17).

**En gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (PAGE-SDS):** Las proteínas fueron disueltas con una solución de buffer TRIS 0,12% y pH 6,8 con 1% de SDS y 1% de 2-mercaptoetanol, manteniéndolas a 37°C por 24h en la oscuridad. Luego, fueron dializadas por 16h en la oscuridad contra una solución de buffer TRIS 0,12% pH y 6,8 con 0,1% de SDS y 0,1% de 2-mercaptoetanol. El gel superior fue preparado con una concentración de acrilamida de 4,4% y pH 6,8 y el gel inferior al 7,5% y 12,6% de acrilamida y pH 8,8. La relación usada de BIS/acrilamida fue 1:37 (11, 17).

**Peso molecular:** Fue calculado por comparación de las movilidades relativas de las bandas de los patrones electroforéticos PAGE-SDS obtenidos con 12,6% de acrilamida con las movilidades de proteínas estándares, determinadas ambas en igualdad de condiciones. Los estándares usados fueron: citocromo C (PM=12.300 daltones), mioglobina (PM=17.200 D), anhidrasa carbónica (PM=30.000 D), ovoalbúmina (PM=45.000 D), albúmina (PM=66.250 D) y ovotransferina (PM=78.000 D).

**Análisis estadísticos:** Los análisis se realizaron por triplicado y a los resultados se les aplicó un análisis de varianza complementado con una prueba de medias de rango múltiple de Duncan, utilizando un nivel de significación del 1% (18).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Extracción de las proteínas

Las semillas de *Canavalia ensiformis* presentaron en promedio 31,29% de proteínas (Tabla 1), el cual varió entre los genotipos en forma significativa al nivel del 1%, presentando el Original el menor porcentaje (28,44%) y el U-02 el mayor (33,06%). Las albúminas y globulinas extraídas representaron, en promedio, el 84, 85% de la proteína total de la semilla, siendo el genotipo Tovar el que presentó el contenido mas bajo (83,93%) y el U-02 el mas alto (85,51%), difiriendo los valores al nivel del 1%. Es de destacar, que el genotipo U-02 mostró la mayor cantidad de proteína y de albúminas y globulinas, mientras que el Original presentó el menor contenido de proteína, pero un alto porcentaje de albúminas y globulinas (85,05%). En cuanto al contenido de nitrógeno de las fracciones proteicas (Tabla 2), se observó que en las albúminas extraídas, la pureza varió entre 12,31% N (Original) y 13,08% N (U-02), en tanto que en las globulinas este parámetro fue algo mayor, ubicándose entre 13,35% N (Tovar) y 13,99% N (Yaracuy).

TABLA 1  
Contenido de proteína y de albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	% Proteína	% Albúminas y globulinas
Tovar	32,7 <sup>a</sup>	83,93 <sup>c</sup>
Yaracuy	30,91 <sup>b</sup>	84,90 <sup>b</sup>
Original	28,44 <sup>c</sup>	85,05 <sup>a,b</sup>
U-02	33,06 <sup>a</sup>	85,51 <sup>a</sup>
Promedio	31,29	84,85

Los valores en columna que presentan letras comunes, no difieren entre sí al nivel de significación del 1%.

TABLA 2  
Contenido de nitrógeno de las fracciones proteicas, albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción albúminas % N	Fracción globulinas % N
Tovar	12,38	13,35
Yaracuy	12,63	13,99
Original	12,31	13,63
U-02	13,08	13,60

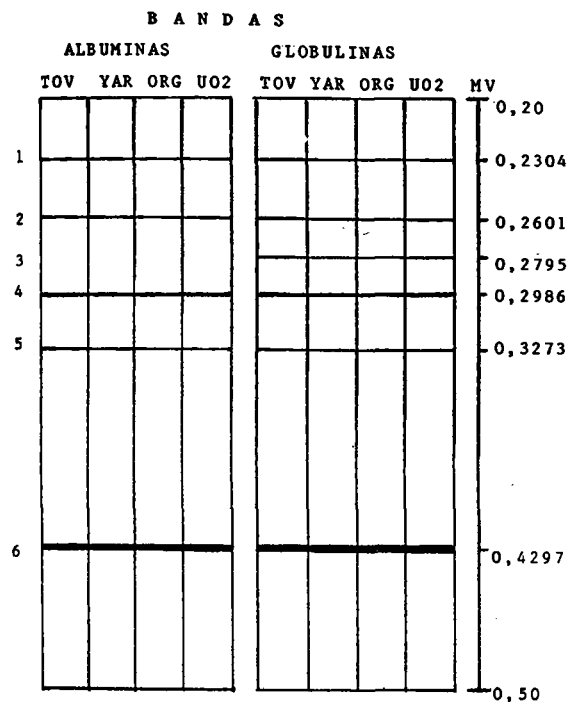
### Electroforesis PAGE

Los patrones electroforéticos con 7,5% de acrilamida, obtenidos para las albúminas estudiadas no se distinguieron entre sí (Figura 1) y dichas proteínas fueron separadas en cinco componentes con movilidades relativas entre 0,2304 y 0,4297. Igualmente, los patrones de las globulinas fueron semejantes y mostraron seis bandas, difiriendo de los de las albúminas en que presentaron la banda 3 (MV=0,2795). En ambas proteínas, las bandas principales fueron la 4 (MV=0,2986) y la 6 (MV=0,4297). Esta última banda fue más ancha y de mayor intensidad en todos los genotipos, por lo que comprendió a componentes que se encuentran en mayor proporción que en el resto de las bandas. Con 10% de acrilamida (Figura 2), los patrones PAGE de las albúminas y globulinas de todos los genotipos analizados, también fueron iguales. En las albúminas se observaron cinco componentes con movilidades relativas ubicadas en un rango de 0,2517 a 0,5303, mientras que las globulinas sólo presentaron tres bandas: la 1 (MV=0,2517), 2 (MV=0,3042) y 3 (MV=0,4169). En ambas fracciones proteicas, de todos los genotipos de *Canavalia*, estas dos últimas bandas fueron las principales, siendo la banda 3 la más ancha e intensa. Con esta técnica no se logró una buena separación de las albúminas y globulinas, las cuales son fracciones proteicas altamente complejas formadas por componentes de diferente tamaño o estado de asociación. Esta deficiente separación de las proteínas en el gel, probablemente debida al tamaño de las moléculas proteicas, imposibilitó establecer diferencias entre ellas. Chacón (3), al analizar estas proteínas mediante electroforesis con acrilamida al 15% sin medio disociante, no logró separarlas y solamente obtuvo una densa franja en la parte superior del gel.

### Electroforesis PAGE-SDS

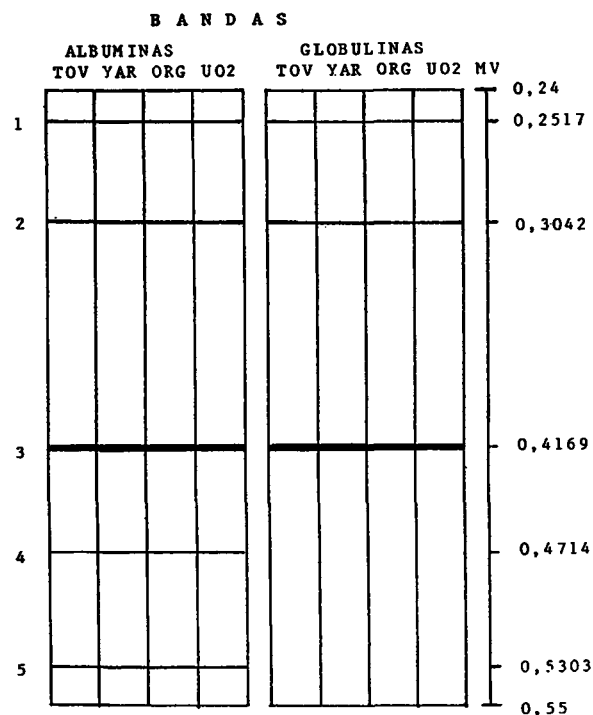
Los patrones PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida de las albúminas y globulinas variaron en el número e intensidad de las bandas, permitiendo diferenciar las muestras en estudio, como se aprecia en la Figura 3. Las albúminas presentaron hasta ocho componentes y las globulinas hasta siete con movilidades relativas entre 0,2981 y 0,9932. Las proteínas de ambas fracciones se diferenciaron entre sí en la banda 5 (MV=0,7811), la cual está ausente en las globulinas.

**FIGURA 1**  
Bandas en PAGE al 7,5% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*



La albúmina del genotipo Yaracuy se separó en cinco componentes representados por las bandas 2 (MV=0,3411), 3 (MV=0,5609), 5 (MV=0,7811), 6 (MV=0,8463) y 8 (MV=0,9932). La albúmina Tovar mostró siete bandas y al igual que la anterior, no presentó la banda 1 (MV=0,2981). En tanto que la Original y la U-02 mostraron los ocho componentes y patrones electroforéticos muy parecidos que sólo se distinguieron entre sí en que la banda 3 fue más intensa en la U-02. En esta fracción proteica, las bandas comunes fueron la 2, 3, 5, 6 y 8, siendo la banda 6 la más intensa en todos los genotipos, mientras que la banda 3 mostró mayor intensidad en las albúminas de los genotipos Tovar, Yaracuy y U-02 y la banda 4 (MV=0,6721) en la Tovar, Original y U-02. En las globulinas, las variaciones entre los patrones PAGE-SDS de los genotipos de *Canavalia*, fueron en menor grado que las observadas entre las albúminas. Así, las globulinas del genotipo Original y del U-02 mostraron patrones electroforéticos semejantes que difirieron de las del Yaracuy únicamente en que la banda 4 fue más intensa en este último genotipo, y de las del Tovar, en que en este genotipo la banda 4 está ausente, presentando dicha fracción sólo seis componentes y las restantes siete. Con 12,6% de acrilamida, la variación entre los patrones PAGE-SDS de los genotipos analizados de ambas fracciones fue más notorio, siendo mayor en los patrones de las albúminas como se observa en las Figuras 4, 5 y 6.

**FIGURA 2**  
Bandas en PAGE al 10% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*



Estas proteínas mostraron veintitrés constituyentes distintos con movilidades relativas entre 0,2603 y 0,7398 y las globulinas dieciséis con movilidades de 0,2454 a 0,7390. La albúmina Original y la Yaracuy fueron separadas en dieciocho componentes, la Tovar en veinte y la U-02 en veintiuno. En todas las albúminas analizadas, las bandas principales fueron la 11 (MV=0,3676) y la 18 (MV=0,5035), siendo la primera la de mayor intensidad. Otras bandas principales fueron la 15 (MV=0,4535) en la albúmina Tovar y la 16 (MV=0,4644) en la Tovar, Original y U-02. Las bandas 9 (MV=0,3246), 10 (MV=0,3318) y 17 (MV=0,4920) únicamente fueron observadas en la U-02 y la 21 (MV=0,5907) en la Tovar. Además, la banda 2 (MV=0,2674) no se observó en la U-02, ni la 19 (MV=0,5284) en la Yaracuy. El resto de las bandas fue común a todos los genotipos. Por su parte, las globulinas Original y U-02 fueron separadas en trece componentes, la Tovar en catorce y la Yaracuy en dieciséis, presentando las dos primeras patrones electroforéticos muy parecidos que sólo difirieron entre sí en que la banda 4 (MV=0,3004) fue más intensa en el genotipo U-02. En todas las globulinas estudiadas, las bandas de mayor intensidad fueron la 5 (MV=0,3479) y la 10 (MV=0,5094), así como la banda 4, la cual fue muy intensa en la Tovar, Yaracuy y U-02. Además, las bandas 7 (MV=0,4156) y 8 (MV=0,4419) sólo se observaron en la globulina del genotipo Yaracuy y la banda 11 (MV=0,5273) en la Tovar y Yaracuy. Las otras

bandas fueron comunes en todos los genotipos. Estos resultados difieren de los obtenidos por Chacón (3), quien utilizó diferente concentración de acrilamida (15%) y distinto material biológico. Igualmente difieren de los de Gómez (5), quien aplicó una concentración de acrilamida del 10%. Como era de esperarse por la naturaleza de las albúminas y globulinas, mediante este método, que usa 2 - mercaptoetanol y SDS como medios disociante y acomplejante, se obtuvo una buena separación de los componentes de dichas proteínas, la cual permitió su diferenciación, lográndose una mayor separación al aumentar la concentración de acrilamida de 7,5% a 12,6%.

FIGURA 3

Bandas en PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*

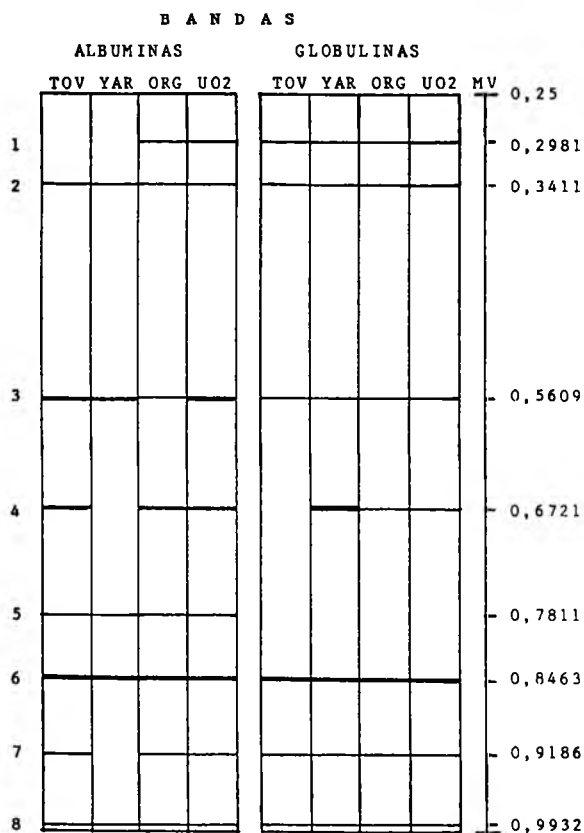
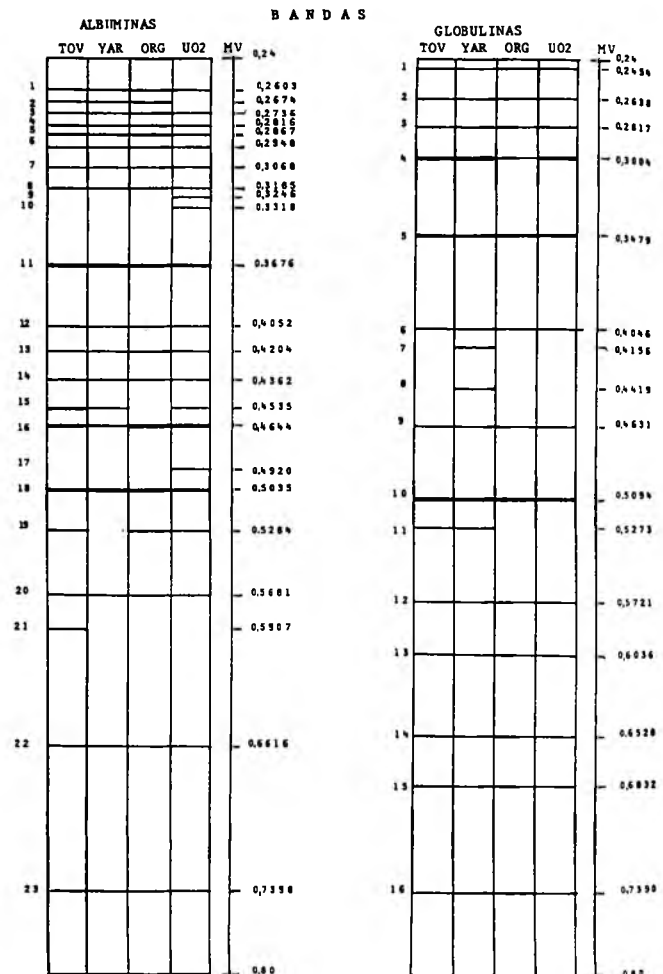


FIGURA 4  
Bandas en PAGE-SDS al 12,6% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*



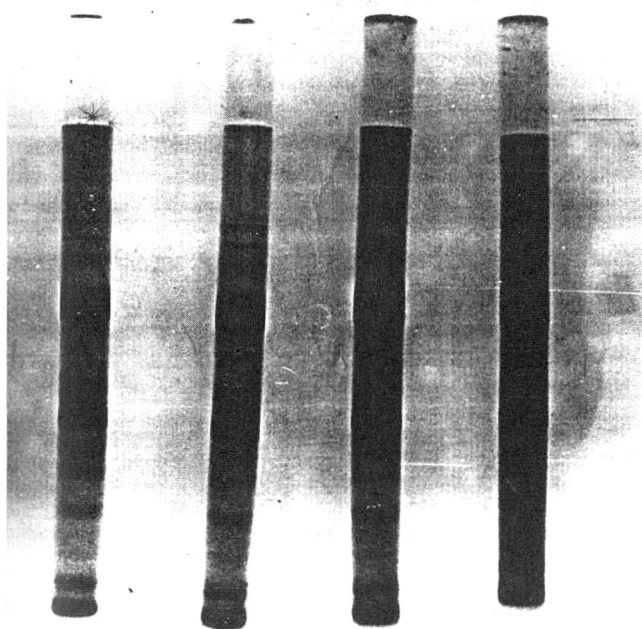
### Peso molecular

Los pesos moleculares de los componentes de las albúminas analizadas se ubicaron en un rango entre 76.000 y 12.000 daltones, como se señala en la Tabla 3. Los pesos moleculares de los constituyentes principales de todas las albúminas fueron: 48.750 D (Banda 11) y 29.750 D (Banda 18). Para las bandas 15 y 16, las cuales fueron intensas en las albúminas Tovar, Original y U-02, los pesos moleculares de los componentes correspondientes fueron: 36.000 y 34.000 D respectivamente. Así mismo los pesos moleculares de los constituyentes de las bandas 9, 10 y 17, presentes únicamente en la *Canavalia* U-02, fueron 59.000, 58.500 y 30.500 D respectivamente, y 21.500 D el peso molecular de los de la banda 21, la cual sólo apareció en el genotipo Tovar. En cuanto al peso molecular de las globulinas estudiadas (Tabla 3), se observó que los valores variaron entre 80.000 y 12.000 D. Para los constituyentes principales de esta fracción, correspondieron

los pesos moleculares de 54.000 D (Banda 5) y 28.750 D (Banda 10). Y 64.000 D para los de la banda 4, componente principal de los genotipos Tovar, Yaracuy y U-02. Además, los pesos moleculares de los componentes de las bandas 7 y 8, presentes sólo en la globulina Yaracuy, fueron 41.000 y 37.050 D respectivamente y 27.000 D el de la banda 11 observada en los genotipos Tovar y Yaracuy. Las albúminas y globulinas son fracciones proteicas heterogéneas constituidas por componentes de diferentes tamaños en los que predominaron los de mediano y bajo peso molecular.

FIGURA 5

Patrones electroforéticos PAGE-SDS con 12,6% de acrilamida, de albúminas de semillas de *Canavalia ensiformis*. De izquierda a derecha: Genotipos U-02, Yaracuy, Tovar y Original



En conclusión, pareciera que el comportamiento electroforético de las globulinas fuese más homogéneo que el de las albúminas, ya que presentaron menos componentes y se diferenciaron en menor grado. Igualmente, los patrones PAGE de los genotipos de *Canavalia* mostraron pocas bandas y no se distinguieron entre sí. En cambio con la PAGE-SDS se obtuvieron patrones electroforéticos distintos que variaron en el número e intensidad de las bandas y que permitieron diferenciar los genotipos en estudio.

FIGURA 6

Patrones electroforéticos PAGE-SDS con 12,6% de acrilamida de Globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*. De izquierda a derecha: Genotipos U-02, Yaracuy, Tovar y Original

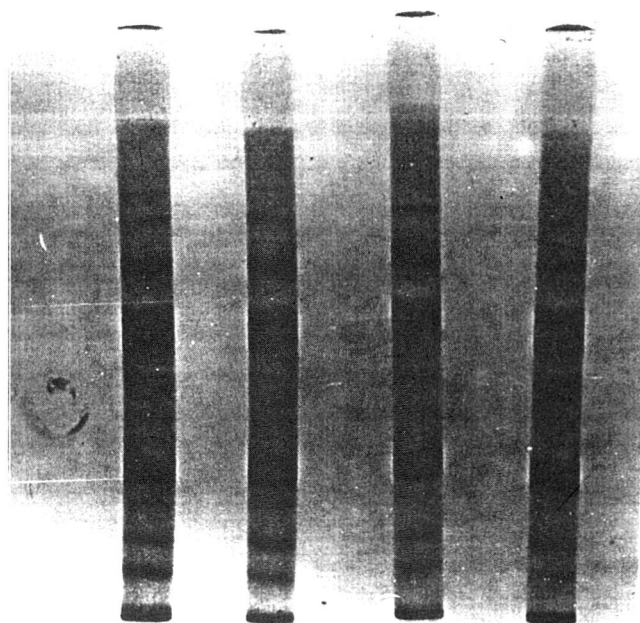


TABLA 3

Peso molecular de los componentes de las albúminas y globulinas de *Canavalia ensiformis*

Bandas	PM Albúminas	PM Globulinas
1	76.000	80.000
2	74.000	76.000
3	72.000	69.750
4	68.750	64.000
5	68.000	54.000
6	66.000	43.750
7	63.000	41.000
8	62.750	37.050
9	59.000	34.000
10	58.500	28.750
11	48.750	27.000
12	44.000	23.000
13	40.000	20.250
14	37.250	16.750
15	36.000	15.000
16	34.000	12.000
17	30.500	
18	29.750	
19	26.500	
20	23.000	
21	21.500	
22	16.250	
23	12.000	

### AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, el financiamiento de esta investigación y al profesor Julio Viera la donación de las muestras estudiadas.

### REFERENCIAS

1. Viera J, Escobar A y Mora M. Consideraciones agronómicas del cultivo de *Canavalia ensiformis*. Rev Alcance 1986;35:279-293. .
2. Bressani R, Gómez R, García A y Elías, L. Chemical composition amino acid content and protein quality of *Canavalia ssp*. Seeds J Sci Food Agric. 1987;40(1):17-23.
3. Chacín R. Estudio de algunas proteínas de semillas de canavalia con fines taxonómicos. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, UCV. 1989.
4. Delgado G. Obtención de aislados proteínicos a partir de harinas crudas integrales de tres variedades de *Canavalia ensiformis*. Trabajo de ascenso. Facultad de Agronomía, UCV. 1990.
5. Gómez A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. UCV. 1990.
6. Ramírez A y Ortiz de Bertorelli L. Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*. Arch Latinoamer Nutr. 1997;47(3):234-236.
7. Hague D. Studies of storage proteins of higher plants. Concanavalina A from three species of the genus *Canavalia*. Plant Physiology. 1975;55(4):636-642.
8. León T y Reina N. Evaluación biológica y cuantificación de factores antinutricionales en cuatro cultivares de *Canavalia ensiformis*. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. UCV. 1987.
9. Aguirre J. Destoxificación industrial de *Canavalia ensiformis* mediante el proceso de extrusión. Trabajo de grado. Facultad de Ingeniería de Alimentos. UNESR. 1988.
10. Coello L y Rodríguez J. Evaluación de factores antinutricionales del grano de *Canavalia ensiformis*. Efecto de varios tratamientos. Acta Científica Venezolana. 1988;39(1):159-166.
11. Ortiz de Bertorelli L. Extracción y caracterización de las prolaminas del grano de seis cultivares de sorgo *Sorghum bicolor* L. Moench Arch Latinoamer Nutr. 1992;42(1):46-51.
12. Ortiz de Bertorelli L y Guerra M. Caracterización de las proteínas de los maíces Venezuela-1, Arichuna. Obregón y Venezuela-1 Opaco-2. Arch Latinoamer Nutr 1983;33(3):539-555.
13. Paulis J y Wall J. Comparison of the protein compositions of selected corns and their wild relatives Teosinte and Tripsacum. J Agric Food Chem. 1977;25(2):2265-2270.
14. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington DC. 1975.
15. Parra P, Ortiz de Bertorelli L y Miranda F. Identificación de híbridos venezolanos de sorgo (*Sorghum bicolor* L Moench) mediante patrones electroforéticos de proteínas. Rev Fac Agron. (Maracay) UCV. 1996;21:61-70.
16. Weber K y Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J Biol Chem. 1969;244(16):4406-4412.
17. Parra P y Ortiz de Bertorelli L. Montaje de un método electroforético para la identificación de cultivares de maíz. Rev Fac Agron (Maracay) UCV. 1993;19:213-226.
18. Little T y Hills F. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas. 3a. de. México. 1979.

Recibido: 31-08-1998

Aceptado: 20-07-1999