

Harina de granos de *Canavalia ensiformis* L (DC) cruda, almacenada en medio alcalino, autoclavada o extruída, en dietas para cerdos en crecimiento

Risso, José F. * y Juan J. Montilla **

RESUMEN. Se realizaron 4 experimentos de alimentación utilizando cerdos en crecimiento, con peso promedio de 14,2 Kg. En cada experimento se sustituyeron partes iguales de harina de maíz y soya por harina de canavalia cruda o procesada mediante almacenamiento en medio alcalino, autoclave o extrusión. En los 3 primeros experimentos los niveles de sustitución de canavalia cruda (CC), almacenada en medio alcalino (CAMA) o autoclavada (CA) fueron: 0, 5, 10 y 15%. En el cuarto, los niveles de inclusión de canavalia extruída fueron 0, 7,5, y 15%. Tanto la canavalia cruda como la extruída redujeron drásticamente el crecimiento de los cerdos. El autoclavado de la harina de canavalia (121° C/15 psi/90min) mejoró substancialmente la respuesta animal, aun cuando el crecimiento de todos los niveles de sustitución fue inferior al observado para la ración basal.

El almacenamiento de los granos en medio alcalino, permitió un mejor comportamiento productivo de los animales, no observándose diferencias ($p < 0.01$) para incremento de peso con el testigo, al nivel de sustitución del 5%. La respuesta de los cerdos a la toxicidad de la canavalia se manifestó en primer término, por una drástica reducción del consumo voluntario de alimentos. En general, los resultados indican que ninguno de los métodos de procesamiento resultó efectivo para eliminar o minimizar los efectos tóxicos de la canavalia cruda sobre el comportamiento productivo de cerdos en crecimiento.

INTRODUCCION

Canavalia ensiformis L (DC), es una leguminosa de grano que tiene alta resistencia al déficit hídrico edáfico y gran potencial productivo en el trópico (1). La composición química de sus granos, según varios autores (2, 3, 4, 5, 6,) sugiere un buen valor nutritivo para cerdos. Contiene un nivel proteico cercano al 30% de la m.s. del grano, y su perfil de aminoácidos es similar al de otras leguminosas tales como soya y maní, aunque con niveles de lisina y metionina ligeramente inferiores a la soya (2). El contenido de energía biodisponible para cerdos no ha sido

SUMMARY. Grain meal of raw, stored in alkaline medium, autoclaved and extruded *Canavalia ensiformis*, in diets for growing pigs. There were made four nutrition experiments using porks in growing process, with an approximate weight of 14,2 Kilograms. In each experiment, it was made a substitution in equals parts of corn flour and soy flour for raw Canavalia flour or processed through alkaline storage, autoclaved or extrusion.

In the first three experiments, the substitution level of raw Canavalia (RC), stored in alkaline environment (CAMA) or autoclave (CA) were: 0, 5, 10 and 15%. In the fourth one, the including levels of Canavalia Extruída were: 0, 7,5 and 15%. The raw Canavalia as the Extruída drastically reduced the pork's growth. The Canavalia flour autoclaved (121° C/15 psi/90 min) substantially improved the animal answers, even though the growth in all the substitution levels were lower than the one observed in the original portion.

The storage of the beans in alkaline environment, made possible better productive behavior in the animals, and it didn't observe differences ($p < 0.01$) to increase the witness weight, at the substitution level or 5%. The pork's answer to the Canavalia toxin was manifested in the first term, by a drastic reduction in the voluntary consumption of foods. As a whole, the results indicated that none of the methods used were effective to eliminate or to minimize the toxic effects in the raw Canavalia over the productive behavior of growing porks.

determinado; sin embargo, León et al (7) encontraron valores de energía metabolizable verdadera en gallos de 2200 y 2750 Kcal. /Kg. de m.s. de harina de granos de canavalia cruda y extruída respectivamente.

Asociados a la fracción nitrogenada del grano se han identificados diversos factores tóxicos que podrían limitar la utilización de altas proporciones del mismo en raciones para monogástricos. Entre éstos destaca la presencia de una lectina denominada *Concanavalina A* (Con A) por Summer and Howel, (8); aminoácidos no formadores de proteínas tales como *canavanina* y *canalina* (9) y la *canatoxina* (10). La *Con A*, es una hemaglutinina, y su efecto tóxico ha sido relacionado, al menos parcialmente, con su capacidad para aglutinar células (11). En el tubo digestivo la *Con A* podría causar

* Universidad Rómulo Gallegos. El Castrejo, San Juan de los Morros
Estado Guárico Venezuela

** Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias.
Maracay, Estado Aragua. Venezuela.

daños a la mucosa e interferir con la absorción de nutrientes, al tiempo que facilitaría la invasión masiva de microorganismos que normalmente no pueden atravesar la barrera mucosal y ocasionar trastornos adicionales al animal (12).

Canavanina y canalina son dos aminoácidos libres, no constituyentes normales de las proteínas. Canavanina aparentemente constituye una importante reserva de nitrógeno para la plántula y su concentración alcanza 3-5 % del peso seco de la semilla (13). Este aminoácido es un homólogo estructural de arginina actuando como su antagonista en muchas reacciones relacionadas con el metabolismo de ésta última en microorganismos (14). Canalina tiene una estructura química homóloga de ornitina, y la hidrólisis enzimática de canavanina en los tejidos de la planta da origen a canalina y urea (15) Rahiala et al (16) y Rahiala (17), han demostrado que este aminoácido es un potente inhibidor, in vitro, de fosfato de piridoxal, pero éste efecto no ha sido confirmado in vivo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el valor nutricional de la harina de granos de *Canavalia ensiformis* cruda, almacenada en medio alcalino, autoclavada o extruida en raciones para cerdos en crecimiento.

MATERIALES Y METODOS

Se condujeron 4 experimentos utilizando cerdos mestizos en crecimiento provenientes de granjas comerciales cuyos pesos promedios fueron 10,7; 20,6; 10,8 y 14,9 Kg/cerdo respectivamente. El agua y el alimento se ofrecieron ad libitum y se evaluó el incremento de peso y el índice de conversión. En todos los casos se utilizó un diseño completamente aleatorio. En el primer experimento se evaluaron 4 raciones conteniendo 0, 5, 10 o 15% de harina de granos de canavalia cruda en sustitución de partes iguales de harina de maíz y de soya, manteniendo las raciones aproximadamente isoproteicas e isocalóricas (Tabla 1). Cada ración fue asignada a tres grupos de 2 cerdos cada uno: 1 macho castrado y una hembra. Los animales se pesaron al inicio de la prueba y luego a los 7 y 14 días. El día 11 se seleccionó al azar un animal perteneciente a la dieta con 15% de harina de canavalia cruda el cual se sacrificó en un intento por observar posibles daños al tracto gastrointestinal y otros órganos.

En el segundo ensayo se utilizaron 16 cerdos asignados a 4 raciones correspondientes a 4 niveles de harina de

granos de canavalia almacenada en medio alcalino. El tratamiento de los granos se hizo mezclando granos de canavalia y de agua (1:1) adicionándose luego 3% de urea y 2% de NH_4OH en relación al contenido de materia seca del grano. Este material se introdujo en bolsas plásticas y éstas a su vez en recipientes herméticamente cerrados por 12 días. Posteriormente los granos fueron secados y molidos. El pH medio fue de 8,03. La formulación de las raciones y el manejo general de los animales fue similar al experimento anterior. Los animales se pesaron al inicio del ensayo y luego cada 7 días durante las primeras 2 semanas. Después se pesaron biseccionalmente hasta las 12 semanas que duró el experimento.

En el ensayo tres se usaron 16 cerdos a objeto de evaluar el efecto de incluir cuatro niveles de (0, 5, 10 y 15%) de harina de granos de canavalia autoclavados en la ración (Tabla 1). Las condiciones de autoclavado fueron: 121° C y 15 libras por pulgada cuadrada de presión (p.s.i.) durante 90 min.

En el cuarto ensayo se usaron 9 cerdos distribuidos en tres raciones con 0, 7, 5 y 15% de harina de granos de canavalia extruidos. Las condiciones de extrusión fueron: humedad 30%; temperatura de los 3 últimos cabezales 85, 110 y 140° C respectivamente; velocidad del tornillo 300 r.p.m. El producto extruido contenía 2,7% de canavanina y un título hemaglutinante de +3 mientras que en el grano crudo el contenido de estos compuestos fue de 3,5% y +8 respectivamente. El material extruido se molió incorporándose en las raciones substituyendo partes iguales de maíz molido y harina de soya (Tabla 2). Los animales se mantuvieron 2 días en pre-ensayo y 7 días en experimentación.

RESULTADOS

Tanto la canavalia cruda como la extruida afectaron drásticamente el crecimiento de los cerdos (Tablas 3 y 4). En los cerdos que consumieron la ración con canavalia cruda se observó: decaimiento general, anorexia, nerviosismo, rechinar de los dientes, exudado marrón rojizo alrededor de los ojos y convulsiones. En los cerdos que recibieron la ración con canavalia extruida se observó: exudado marrón rojizo alrededor de los ojos, nerviosismo, pelo áspero y erizado.

HARINA DE GRANOS DE (*Canavalia ensiformis* L) (DC) CRUDA, ALMACENADA

TABLE 1
COMPOSICION DE LAS RACIONES CON 0, 5, 10 y 15% DE HARINA DE CANAVALLIA CRUDA,
ENSILADA O AUTOCLAVADA.

Ingredientes (%)	Basal %	Nivel de Canavalia (%)		
		5	10	15
Harina de canavalia*	0.0	5.0	10.0	15.0
Harina de maíz	66.3	63.8	61.3	58.8
Afrechillo de trigo	6.0	6.0	6.0	6.0
Harina de carne y hueso	6.0	6.0	6.0	6.0
Fosfato dicalcico	1.5	1.5	1.5	1.5
Carbonato de calcio	1.0	1.0	1.0	1.0
Harina de pescado	6.0	6.0	6.0	6.0
Harina de soya	12.0	9.5	7.0	4.5
Sal común	0.5	0.5	0.5	0.5
DL-metionina	0.2	0.2	0.2	0.2
Lisina	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitaminas y minerales**	0.4	0.4	0.4	0.4
Totales	100.0	100.0	100.0	100.0

* Se refiere a la harina de granos crudos, autoclavados o ensilados de Canavalia

** Provee por Kg de dieta: Vitamina A 12.000 U.I.; D₃ 4.000 U.I.; E 5.000; K 0.004 g.; B₁₂ 0.016 mg.; B₂ 0.01 g.; Niacina 0.05 g.; D-Pantotenato Cálcico 0.002 g.; Colina 0.2 g.; Hierro 0.12 g.; Cobre 0.02 g.; Manganeso 0.06 g.; Cobalto 0.002 g.; Zinc 0.1 g.; Iodo 0.004 g

DISCUSION

El tratamiento en autoclave de harina de canavalia, mejoró substancialmente la respuesta animal, aun cuando la tasa de crecimiento fue muy inferior a la obtenida con la ración basal (Tabla 3). No se observaron diferencias para ganancia de peso ni para índice de conversión entre los niveles 5, 10 y 15% de substitución. En general se observó una tendencia hacia un mayor deterioro de los parámetros productivos, con el incremento del nivel de canavalia autoclavada en la ración. Cuando los cerdos recibieron Canavalia almacenada en medio alcalino, no se observaron diferencias significativas ($p < 0.01$) con la ración basal para incremento de peso, al nivel de substitución del 5% (Tabla 3). Para índice de conversión, solo la ración conteniendo 15% de canavalia almacenada fue estadísticamente inferior ($p < 0.01$). No se observaron síntomas de toxicidad en los animales, excepto la reducción del crecimiento ya señalada para los mayores niveles de substitución.

La incorporación de harina de granos de canavalia cruda en la ración, resulto en una drástica reducción del consumo. Este efecto, aunque más intenso en el caso de los cerdos, ha sido reportado también en aves (12; 18; 7; 19) y en rumiantes (20). La explicación de esta potente acción depresora del consumo cuando los animales ingieren canavalia permanece sin aclarar. La harina de canavalia cruda es capaz de ocasionar fuertes daños a la mucosa intestinal (11). Se sabe que la regulación del consumo voluntario de alimentos puede funcionar como una especie de válvula de seguridad (21). Por ejemplo la sensación de saciedad por replección del tubo digestivo evita la sobrecarga del mismo. El daño a la mucosa digestiva por efecto de los factores tóxicos de canavalia pudiera funcionar de manera similar, evitándose así, peores efectos nocivos al suspenderse el consumo. Por otra parte se ha demostrado que un imbalance de aminoácidos en la dieta está asociado con reducciones del con-

TABLA 2
COMPOSICION DE LAS RACIONES EXPERIMENTALES CON CANAVALLIA EXTRUIDA

Ingredientes (%)	Basal	7,5 %	15 %
Maíz molido	69,86	66,11	63,36
Harina de soya	25,63	21,88	18,13
Fosfato dicalcico	2,50	2,50	2,50
Piedra caliza molida	1,01	1,01	1,01
Sal común	0,50	0,50	0,50
Vitamina - Minerales*	0,50	0,50	0,50
Canavalia extruida	0,00	7,50	15,00
Totales	100,00	100,00	100,00

* Provee por Kg de dieta: Vitamina A 30.000 U.I.; Vitamina D₃ 6.000 U.I.; Vitamina E 30 U.I. o mg; Vitamina K₃ 6 mg.; Vitamina B₂ 18 mg.; Vitamina B₆ 9 mg.; Vitamina B₁₂ 54mcg.; Niacina 90 mg.; D-Pant. de calcio 45 mg.; Acido fólico 3 mg; Cloruro de colina 1.200 mg.; vehículo idóneo. c,s,p: Aceite vegetal refinado 1.00%
Nota: La etiqueta no da los aportes de minerales.

sumo voluntario de alimentos, las cuales están mediadas por distorsiones en el perfil plasmático de aminoácidos (22) Estudios recientes conducidos por Michelangeli et al (23) indican que la adición de 2% de sulfato de canavanina en raciones para pollitos de engorde, resultó en aumentos significativos de este aminoácido en plasma, y en una reducción plasmática en el orden del 50% del nivel de lisina, y en menor grado de arginina; concomitantemente se observó reducción del consumo de alimentos en menos de 4 horas. Es posible que eventos similares puedan estar ocurriendo en los cerdos alimentados con harina de canavalia. Por otra parte, León (24) señala que la Concanavalina A constituye el agente principal responsable del efecto, a corto plazo, sobre el consumo el cual es neutralizado, temporalmente, con la adición de manosa a las dietas conteniendo Concanavalina A. Así mismo se ha observado que la melaza ejerce un efecto fuertemente mejorador del consumo cuando se incorpora a dietas con 30% de canavalia autoclavada, en aves (Castillo, comunicación personal). Resultados similares observó Risso (datos sin publicar), en una prueba corta de 6 días utilizando cerdos en crecimiento.

La mejor respuesta observada cuando los cerdos consumieron canavalia almacenada, reflejaría una destoxificación mas efectiva por el ensilaje. Sin embargo, se requiere investigar diferentes condiciones de almacenamiento y autoclavado y efectuar las pruebas biológicas necesarias para llegar a conclusiones precisas. La Conca-

navalina A es termolábil, siendo afectada tanto por bajas como por altas temperaturas. La reducción térmica de 20 o 37, a 0 o 4 grados centígrados, produce marcado daño a la habilidad de la Con A, para precipitar dextrano y para aglutinar eritrocitos humanos (26). Por otro lado temperaturas por encima de 50 grados centígrados, producen desnaturalización de la Con A. Sin embargo, los resultados de este trabajo indican que el tratamiento en autoclave de la harina cruda de canavalia, bajo las condiciones en que se realizó, no destruye completamente los factores antinutricionales presentes en el grano. Montilla et al, (27) reportan una reducción en la concentración, tanto de Con A. como de canavanina de alrededor a un 50% por efecto del autoclavado a 121 grados centígrados durante 90 min. Por otra parte, condiciones más drásticas de tratamiento pueden dañar la calidad de la proteína. Así, D'Mello et al, (18) refieren una destrucción total de la cistina por efecto del autoclavado a 121 grados centígrados durante 1/2 hora.

Con relación al almacenamiento alcalino, el valor proteico de la canavalia podría mejorarse como consecuencia de la introducción en el medio de sustancias nitrogenadas como la urea y el hidróxido de amonio, pero esto no fue cuantificado. Respecto al efecto de este tratamiento sobre los factores tóxicos, los resultados de la Tabla 5, de un experimento donde se utilizó cantidades crecientes de urea en el medio, revelan que con un 5% b.s., el título hemaglutinante se reduce a cero, y la con-

HARINA DE GRANOS DE (*Canavalia ensiformis* L) (DC) CRUDA, ALMACENADA

TABLE 3
 EFECTO DE VARIOS NIVELES DE CANAVALIA CRUDA (Exp. 1), ALMACENADA EN UN MEDIO ALCALINO (Exp. 2) O AUTOCLAVADA (Exp. 3) SOBRE EL INCREMENTO DE PESO (I.P.) E INDICE DE CONVERSION (I.C)* DE CERDOS EN CRECIMIENTO**

Nivel de canavalia %	Canavalia cruda		Canavalia autoclavada		Canavalia almacenada	
	I.P (g/cerdo/d)	I.C	I.P (g/cerdo/d)	I.C	I.P (g/cerdo/d)	I.C
0	249	2,66	414 a	2,52 a	715 a	3,31 a
5	-6	-	132 b	3,48 b	678 a	2,94 a
10	-76	-	123 b	3,20 b	494 b	3,09 a
15	-120	-	93 b	3,73 b	213 b	5,22 b

* Indice de conversión: Kg alimento consumido/incremento de peso.

** Letras distintas en una misma columna denotan diferencias altamente significativas ($p < 0,01$)

TABLE 4
 EFECTO DE INCLUIR 3 NIVELES (0, 7,5 Y 15%) DE HARINA DE GRANOS DE CANAVALIA EXTRUIDA EN RACIONES PARA CERDOS EN CRECIMIENTO

Canavalia extruída * (%)	Incremento de peso (g/cerdo/d.)
0,0	546
7,5	-222
15,0	-223

* El proceso de extrusión se realizó de acuerdo a las siguientes condiciones: Humedad: 28-30%. Temperaturas de las últimas cámaras: 85,110, 140 grados centígrados. Velocidad del tornillo 300 r.p.m. Características del extrusor: marca Wenger, modelo x-5, tipo laboratorio, capacidad 10 Kg/hora.

concentración de canavalina disminuye en más del 90%. Además, el nivel más adecuado de urea para disminuir la

concentración de canavanina parece ser el de 2,5; pero para el título hemaglutinante es el de 5% (b.s.)

TABLE 5
 CONTENIDO DE CANAVANINA Y ACTIVIDAD HEMAGLUTINANTE EN HARINAS DE *CANAVALLIA*
ENSIFORMIS TRATADAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE UREA

Tratamiento (% urea b.s.)	% de canavanina	Título hemaglutinante
0,0	1,95	5,25 *
2,5	0,12	3,25
5,0	0,21	0
7,5	0,43	0
10,0	0,54	0,5

* Los valores mostrados son promedios de 4 repeticiones, tanto para el título hemaglutinante como para el porcentaje de canavanina

REFERENCIAS

- National Academy of Science. Tropical Legumes: resources for the future. pp. 54 - 55. 1979
- FAO. Contenido de aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre proteínas. FAO. Estudios sobre nutrición numero 24. Roma. 1970.
- Marcon D. Efecto del calentamiento sobre la toxicidad y valor nutritivo de las harinas de semilla de rabo ratón (*Glyricidia sepium*), haba de burro (*Canavalia ensiformis*) y soya (*Glicine max*). Facultad de Agronomía, I.C.V. (mimeografiado) 19 p. 1975.
- Reyes H. y C. Orta. El haba de burro (*Canavalia ensiformis*) una alternativa para la producción agrícola del país. IX Jornadas Agronómicas. Maracay. Venezuela. (Resúmenes). 1977
- Addison, R. B. The effect of fertilizing, spacemnt and date of planting on the yield of jack bean (*Canavalia ensiformis*). The Rhodesian Agricultural Journal 54 : 521-532. 1957.
- Mora M.; A. Escobar R. Parra y O. de Parra. Comportamiento granero de *Canavalia ensiformis* en Rio Negro (Venezuela) Facultad de Agronomía U.C.V. Informe Anual. Instituto de Producción Animal. pp. 29 -30. 1980
- León A.; M. Picard; J. J. Montilla; R. E. Vargas; y R. Parra. Determinación de la energía metabolizable aparente y verdadera de granos de *Canavalia ensiformis* crudos y extruídos. Informe Anual. Instituto de Producción Animal. Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay. p. 43. 1987
- Summer J. B. and S. F. Howel. The identification of hemaglutinine of jack bean with Concanavaline A. J. Bacteriology (32) 227. 1936.
- Hegarty M. P. and P. J. Peterson. Free amino acids, amines and ureides. In: Chemistry and Biochemistry of Herbage (G. W. Buttler and R. W. Bayley eds.) Academic Press, London - New York. 1973
- Carlini, C. and I. Guimaraes. Isolation and characterization of a toxic protein from *Canavalia ensiformis* (jack bean) seeds distinct from Concanavalin A. Toxicon 19:667-675. 1981
- Jaffé W. Factores tóxicos en leguminosas: su importancia práctica. En: Aspectos nutricionales de la caraota y otras semillas alimenticias para los animales y el hombre (W. G. Jaffé ed.) Arch. Lat. Nutr. Caracas. Venezuela. 1973
- Fowden, L. Non protein nitrogen compounds toxicity and antagonistic action in relation to amino acid and protein synthesis. In: Plant Proteins (G. Norton ed.) pp 109 - 115 Butterworths. London - Boston. 1976
- Bell, E. A. Phytochemical Ecology (J. B. Harborne ed.) 163-177. Academic Press. New York. 1972
- Rosenthal C. A. and E. A. Bell. Naturally occurring toxic non protein amino acids. In: Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites (G. Rosenthal and D. H. Janzen eds.) pp 351-385 Academic Press New York. 1979
- Rosenthal G.A. Investigations of canavanine biochemistry in the jack bean plant (*Canavalia ensiformis*) II: Canavanine, biosynthesis in the developing plant. Plant Physiology 50: 328-331. 1972
- Rahíala E. L.; J. M. Kevomaki; A. Rahia and C. R. Rahia. Inhibition of pyridoxal enzymes by L - canaline. Biochem. Biophys. Acta. 227: 337-343. 1971
- Rahíala L. Characterization of enzyme pyridoxal phosphate complex. Acta Chemica Scandinavica. 27:3861-3867. 1973
- D'mello, F.; T. Acamovic and A. Graham. Nutritive value of jack bean (*Canavalia ensiformis*) for young chicks. Trop. Agric. (Trinidad) 62 : 145 - 150. 1985
- Michelangeli, Coromoto. Efecto de varios tratamientos sobre los factores antinutricionales de *Canavalia ensiformis* incluida en dietas para pollos en crecimiento. Trabajo de ascenso. Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV. Maracay, Venezuela. 124 pp. 1984

HARINA DE GRANOS DE (*Canavalia ensiformis* L) (DC) CRUDA, ALMACENADA

20. Mora M. *Canavalia ensiformis*: Uso en Rumiantes. Universidad Central de Venezuela, Post Grado en Producción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Tesis de M. Sc. 169 pp. 1983
21. Hafez E. S. E. y A. Dyer. Desarrollo y Nutrición Animal. Acibia, Zaragoza. 472 p. 1972
22. Harper A.E. Dietary protein and aminoacids in food intake regulation. Chap. 11. In: The chemical sense and nutrition (M. R. Kare and O. Male eds.) pp. 55 -167. Baltimore, The John Hopkins Press. 1967
23. Michelangeli C.; A. Diaz; J. J. Montilla and R. E. Vargas. Effects of raw jack bean (*Canavalia ensiformis*) and canavanine sulfate on performance, plasma aminoacid pattern and arginase activity in growing chicks. Poultry Science. (Abstract) 68-96. 1969
24. León Alicia. Rol de la Concanavalina A en la regulación del consumo de alimentos a corto plazo en aves. Facultad de Agronomía U C V. (mimeografiado 3 pp.). 1990
25. Doyle, R. J.; E. P. Pittz; and E. E. Woodside. Carbohydrate protein complex formation. Some factors affecting the interaction of D-glucosa and polysacharides with Concanavalin A. Carbohydrate Res. 8 : 89 - 100. 1968
26. Gordon, J. A. and M. D. Marquart. Factors affecting hemagglutination by Concanavalin A. and soybean hemagglutinin. Bioch. Byophys. Acta. 332 : 136 - 144. 1974
27. Montilla J. J.; J. A. Campos; J. M. Rodríguez y L. Coello. Efecto del remojo y del autoclavado en granos de *Canavalia ensiformis* (mimeografiado). 11 p. 1988