

LECTINAS DE *Phaseolus vulgaris* L. var ñuña “ñuña” Y SU ESPECIFICIDAD HEMOAGLUTINANTE FRENTE A GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y LEVADURAS

Lectins from *Phaseolus vulgaris* L. var ñuña "ñuña" and uniqueness from hemagglutinating ABO blood groups and yeast

Arellano-Barragán, Julio¹; Ilich-Zerpa, Steban¹; Salazar-Castillo¹, Marco; Rodríguez-Haro¹, Icela; Obeso-Villazón, Cinthya²

RESUMEN

Una lectina de *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” que se obtuvo a partir de una extracción ácida, presentó su efecto aglutinante en una suspensión fresca de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Levadura roja* en PBS a temperatura ambiente y observadas después de una hora de incubación. Asimismo, esta lectina tuvo efecto hemaglutinante en suspensiones de glóbulos rojos de los grupos sanguíneos ABO. Las suspensiones de las levaduras tuvieron una concentración de $2,4 \times 10^8$ comparada con el tubo 8 de Mac Farland. El efecto aglutinante se demostró tanto en extracto crudo como en pre-purificado con alcohol de 95°. Cuando la suspensión de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* o *Levadura roja* son tratadas con glicina - HCl y sometidas a ebullición por 15 minutos pierden la capacidad de aglutinarse con el extracto crudo de semillas de “ñuña” y con extracto pre-purificado con alcohol. Las especies de levaduras fueron cultivadas en agar sabouraud y cosechada con PBS. Los extractos de “ñuña” se obtuvieron a partir de semillas que fueron molidas a polvo fino, tamizadas y extraída la lectina con ácido clorhídrico 0.1N, centrifugada y el sobrenadante (extracto crudo) fue precipitado con alcohol, el precipitado fue separado por centrifugación, y redissuelto con PBS (extracto pre purificado). Se determinó la concentración de proteínas por los métodos de Biuret y Lowry.

Palabras clave: Lectinas, Extracción, Purificación, *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña”, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y levadura roja.

ABSTRACT

Phaseolus vulgaris L. var. ñuña “ñuña” the lectins which was obtained by acid extraction, showed a binding agglutinating effect against *Candida albicans* suspension in PBS to at room temperature and observed after one hour. *C. albicans* suspension had a concentration of $2,4 \times 10^8$ compared with Farland Mac tube 8. Binding effect demonstrated so much in crude extract as pre-purified with alcohol of 95°. “Ñuña” seeds were worn out to fine dust, sifted and extracted with hydrochloric acid 0.1N, centrifuged and the supernatant (crude extract) it was precipitated with alcohol, the precipitated one was separated by centrifugation and suspended with PBS (extract pre purified). The protein concentration was determined by *Candida albicans* was cultivated in agar sabouraud and harvested with PBS. When *Candida albicans* is treated with glicina - HCl and submitted boiling by 15 minutes, agglutination did not present the crude extract of seeds of “ñuña” or pre-purified extract with alcohol.

Key words: Lectins, Extraction, Purification, *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña”, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Presentado el 20.04.2012 aceptado 08.11.2013

¹Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. Universidad Nacional de Trujillo.

²Egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo.

INTRODUCCIÓN

La gran importancia de las lectinas se debe fundamentalmente a sus propiedades biológicas, tales como aglutinación de eritrocitos y otras células como linfocitos, espermatozoides, plaquetas y bacterias, inducción de mitosis en linfocitos, efectos citotóxicos sobre linfocitos, aglutinación de virus y otras¹.

Las lectinas aisladas de diversas fuentes vegetales han demostrado ser herramientas útiles en la investigación biomédica con propósitos analíticos y preparativos, para el diagnóstico y terapia en el cáncer, así también para la tipificación de grupos sanguíneos y bacterianos²

Las Lectinas vegetales también participan en las interacciones entre las bacterias fijadoras de nitrógeno con la raíz de plantas de leguminosas, pueden tener efectos protectores en contra de la acción patogénica de ciertos microorganismos como es el caso de los nemátodos herbívoros³.

Estas sustancias se conocen desde hace más de cien años, cuando se observó la capacidad que tenían para aglutinar a los glóbulos rojos y a otros tipos de células como los linfocitos, fibroblastos, espermatozoides, bacterias y hongos^{4,5}.

El carácter diferente de las hemoaglutininas obtenidas de diversas plantas se manifiesta por sus respectivas especificidades frente a los hematíes. Así los extractos de arvejas, garbanzos y lentejas

aglutinan sangre de conejo, pero no la de origen humano como lo hacen las aglutininas de **P. vulgaris** y **P. lunatus** sólo aglutinan eritrocitos humanos del grupo A⁶.

Durante las dos últimas décadas el interés sobre el estudio de las lectinas se ha incrementado de manera importante, en los estudios más recientes se han reportado una cantidad impresionante de datos sobre lectinas en diferentes direcciones como aislamiento, purificación y caracterización de nuevas lectinas o la utilidad de alguna de ellas para el estudio de membranas celulares normales o alteradas.

Actualmente se sabe que la colonización de la superficie dental por estreptococos implica la atracción de estas bacterias a los componentes salivales. En la biocapa dental esta adherencia también puede implicar que las lectinas se adhieran a componentes presentes en la superficie de los organismos, que obligan a los hidratos de carbono complementarios a unirse sobre la superficie. Se ha demostrado que el uso de 6 lectinas, extraídas de semillas de la familia Leguminosae, inhiben la adhesión de cinco especies estreptococos in vitro⁷.

Una prueba de aglutinación por lectinas ha sido desarrollada para la identificación y confirmación de *Neisseria gonorrhoeae*. Con lectinas de germen de trigo como aglutinina, 164 de los 165 aislados clínicos de *N. gonorrhoeae* dieron reacción positiva dentro de 6 a 8 min.

Cuatro aislados gonocócicos, aunque negativos por el método fluorescente-anticuerpo, dieron fuertes reacciones positivas con la lectina de germen de trigo. Entre las 23 cepas de *Neisseria meningitidis* probadas, que incluyó a representantes de serogrupos A, B, C, D, X, Y y Z, sólo una cepa en el grupo X dio una reacción falso-positiva. Las especies patogénicas de *Neisseria*, así como *Branhamella catarrhalis*, mostraron reacciones negativas con la aglutinina de germen de trigo⁸.

En la literatura revisada no se ha encontrado trabajos que informen sobre la actividad aglutinante de la lectina de *Phaseolus vulgaris* L. var. Ñuña “ñuña” frente a grupos sanguíneos ABO y levaduras; por lo que esto nos lleva a plantear la siguiente interrogante: ¿Existen lectinas con actividad aglutinante en las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Ñuña “ñuña” sobre grupos sanguíneos ABO y levaduras?

Siendo *Phaseolus vulgaris* L. var. Ñuña “ñuña” especie vegetal perteneciente a la familia de las Fabáceas y existiendo múltiples estudios que reportan la presencia de lectinas en semillas de otras especies pertenecientes a esta familia, es lógico afirmar que *Phaseolus vulgaris* L. var. Ñuña “ñuña” presenta en sus semillas lectinas con actividad aglutinante frente a grupos sanguíneos y levaduras.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. MATERIAL

1. Material biológico

- Semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Ñuña “ñuña”
- Cultivo puro de *Candida albicans*
- Cultivo puro de *Saccharomyces cerevisiae*
- Cultivo puro de *Levaduras rojas*

2.- Reactivos

- Los reactivos usados fueron de Sigma o Merk de grado analizado.

B. MÉTODO

1. Recolección de muestra

Semillas de ñuña obtenidas del mercado local, fueron identificadas taxonómicamente en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.

2. Extracción de lectinas

Las semillas de ñuña fueron molidas hasta ser convertidas en harina. Se tomaron 50 gramos de harina de estas semillas y se realizó una extracción con 200 ml de HCl 0.1 N por 30 minutos en agitación constante y a temperatura ambiente⁹.

Posteriormente la mezcla se filtró a través de un embudo buchner con una capa gruesa de algodón, colocado sobre un kitasato y con la ayuda de la bomba de vacío. El filtrado obtenido fue transparente.

El filtrado se precipitó con alcohol de 95° hasta hacer la solución a 70°. El alcohol fue previamente colocado en la congeladora a -13° C y se le agregó lentamente, gota a gota hasta hacerlo a 70°. Todo esto se realizó en frío con hielo y en agitación permanente. Terminada la adición del alcohol, se dejó por 15 minutos más en agitación y luego se llevó a la congeladora toda la noche.

El precipitado obtenido fue centrifugado en frío por 30 minutos a 5000 rpm y disuelto en 20 ml de HCl 0.1 N.

La solución homogénea de la muestra fue dializada contra 2 litros de solución salina fisiológica. Todo esto se realizó en frío y en permanente agitación durante 24 horas.

Después de la diálisis se formó un precipitado insoluble que fue separado por centrifugación. La solución sobrenadante clara (lectina pre purificada) será utilizada para determinar: proteínas, actividad hemaglutinante, y su efecto aglutinante frente a células de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *levadura roja*⁹.

3. Prueba de hemaglutinación¹⁰

3.1. Obtención de eritrocitos:

Los eritrocitos humanos del sistema ABO se colectaron de donadores aparentemente sanos en el Laboratorio de Química

Biológica del Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal – Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo.

3.2. Actividad hemaglutinante:

La extracción de eritrocitos se realizó con solución salina citratada (600 mg de citrato de sodio/ por litro de solución). Las células fueron centrifugadas a 1000 rpm por 10 minutos, el sobrenadante eliminado y los eritrocitos se lavaron 2 veces con solución salina fisiológica. El paquete eritrocitario obtenido del último lavado y centrifugado fue diluido con salina hasta obtener una suspensión del 2 % (v/v)^{10,11}.

La prueba de hemaglutinación se realizó en placas excavadas de porcelana las cuales contienen 16 hoyos, en el primer hoyo se dispensó 200 µL de lectinas, a partir del segundo hoyo hasta el décimo quinto se dispensará 100 µL de solución de NaCl 0.15 M conteniendo CaCl₂ 5 mM. Luego se transfirió 100 µL de la muestra del primer hoyo al segundo, y de éste último al tercero hasta el décimo quinto; y 100 µL de este último hoyo descartados. Obteniéndose diluciones al ½ a partir del segundo hoyo hasta el décimo quinto^{10,11}.

Luego se agregó 100 µL de glóbulos rojos a cada hoyo y mezclados suavemente desde el primer hoyo hasta el décimo quinto.

En el hoyo décimo sexto se colocó 100 µL de solución de NaCl 0.15 M, CaCl₂ 5 mM, MnCl₂ 5 mM más 100V de glóbulos rojos como blanco o testigo de hemaglutinación negativa.

Las lecturas de hemaglutinación por visualización directa se realizaron entre los 30 minutos y 2 horas después de agregar la solución de eritrocitos humanos a los diferentes hoyos conteniendo la lectina.

Una unidad de hemaglutinación fue definida como el recíproco de la dilución más alta que todavía causa una aglutinación visible, siendo la actividad específica dada como unidades de hemaglutinación por miligramo de proteína en la muestra sin diluir.

La dosis mínima fue definida como la concentración mínima necesaria para producir hemaglutinación visible^{10,11}.

4. Determinación de proteínas

La concentración será medida por espectrofotometría a 540 nm con el método de Biuret¹² y por el método de Lowry¹³.

5. Aislamiento de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Levadura roja*.

Candida albicans fue obtenida de un paciente con infección vulvovaginal e identificada en el laboratorio ESCALABS de la ciudad de Trujillo. El cultivo puro de *Candida albicans* fue aislado en placas de vidrio con medio sabouraud y luego incubadas a 37° C por 48 horas.

El cultivo puro de *S. cerevisiae* fue donada por el laboratorio de Microbiología de alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas.

El cultivo de una levadura roja (por identificar, probablemente levadura roja del arroz) fue donada por el laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas.

6. Obtención del cultivo masal de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Levadura roja*

En un frasco de Roux con 150 mL de agar sabouraud se agregó una suspensión de levadura de un cultivo en placa. Se incubó a 37° C por una semana obteniéndose un cultivo en fase estacionaria.

De igual manera se procedió con las levaduras *S. cerevisiae* y *Levadura roja*.

7. Ensayo de aglutinación de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Levadura Roja*

Las células de las diferentes especies fueron colectadas por centrifugación a 3000 g por 15 minutos, lavadas con PBS y resuspendidas en PBS, ajustando las suspensiones a una absorbancia de 0.5 en una longitud de onda de 620 nm¹⁴. 3 ml de cada suspensión celular fueron dejados sin tratar, y 3 ml hervidos en glicina HCl a pH 2¹⁴.

Para el tratamiento con glicina – HCl, las suspensiones fueron centrifugadas a 3000 g por 15 minutos, resuspendidas con 3 ml de buffer glicina HCl pH 2 y hervida por 15 minutos. Las células fueron luego lavadas con PBS y resuspendidas con 3 ml de PBS¹⁴.

Los ensayos de aglutinación fueron realizadas en pequeños tubos de vidrio en un volumen final de 0.1 ml, conteniendo 10 µL de PBS en vez de la solución de lectina y 90 µL de suspensión celular¹⁴ así mismo en placas de vidrio excavadas.

Un control negativo fue incluido para cada cepa, agregando 10 µL de PBS en vez de la solución de lectina¹⁴.

Después que las mezclas fueron dejadas por una hora a la temperatura del laboratorio, la aglutinación fue evaluada visualmente¹⁴.

8. Reproducibilidad

La reproducibilidad de la aglutinación de lectinas fue demostrada subcultivando a los microorganismos 5 veces y los ensayos de aglutinación se realizaron como se ha descrito anteriormente¹⁵

RESULTADOS

Tabla 1. Actividad hemaglutinante de lectina pre purificada de *Ph. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” a temperatura ambiente sobre los grupos sanguíneos “ABO”. Los resultados son altamente reproducibles y representan los valores de cinco experimentos.

Grupo sanguíneo	Nº Hoyos con células aglutinadas	Máximo Nº de Dilución	[P] µg/mL	Unidades de hemaglutinación	Actividad específica
Grupo “O”	13	1/4096	0.57	1	4096
Grupo “A”	13	1/4096	0.57	1	4096
Grupo “B”	14	1/8192	0.28	½	8192
Grupo “A”	13	1/4096	0.57	1	4096

Tabla 2. Actividad hemaglutinante de extracto crudo de *Ph. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” a temperatura ambiente sobre los grupos sanguíneos “ABO”. Los resultados son altamente reproducibles y representan los valores de cinco experimentos.

Grupo sanguíneo	Nº Hoyos con células aglutinadas	Máximo Nº de Dilución	[P] µg/mL	Unidades de hemaglutinación	Actividad específica
Grupo “O”	13	1/4096	1.09	1	4096
Grupo “A”	13	1/4096	1.09	1	4096
Grupo “B”	12	1/2048	2.17	2	2048
Grupo “A”	12	1/2048	2.17	2	2048

Tabla 3. Actividad aglutinante de lectina pre purificada y de extracto crudo de *P. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” a temperatura ambiente sobre *C. albicans*, *S. cerevisiae* y levaduras rojas tratadas o no, con glicina - HCl.

Tipos de levaduras	Tratamiento de <i>P. vulgaris</i> L. var. ñuña “ñuña”	Nº de hoyos con células aglutinados	Máximo Nº de dilución
<i>Candida albicans</i>	Lectina pre purificada	9	1/128
	Extracto crudo	9	1/128
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Lectina pre purificada	Ninguno	Negativo
	Extracto crudo	9	1/128
Levadura roja	Lectina pre purificada	Ninguno	Negativo
	Extracto crudo	Ninguno	Negativo
<i>Candida albicans</i> tratada con glicina - HCl	Lectina pre purificada	Ninguno	Negativo
	Extracto crudo	Ninguno	Negativo
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> tratada con glicina - HCl	Lectina pre purificada	Ninguno	Negativo
	Extracto crudo	Ninguno	Negativo
Levadura roja tratada con glicina - HCl	Lectina pre purificada	Ninguno	Negativo
	Extracto crudo	Ninguno	Negativo

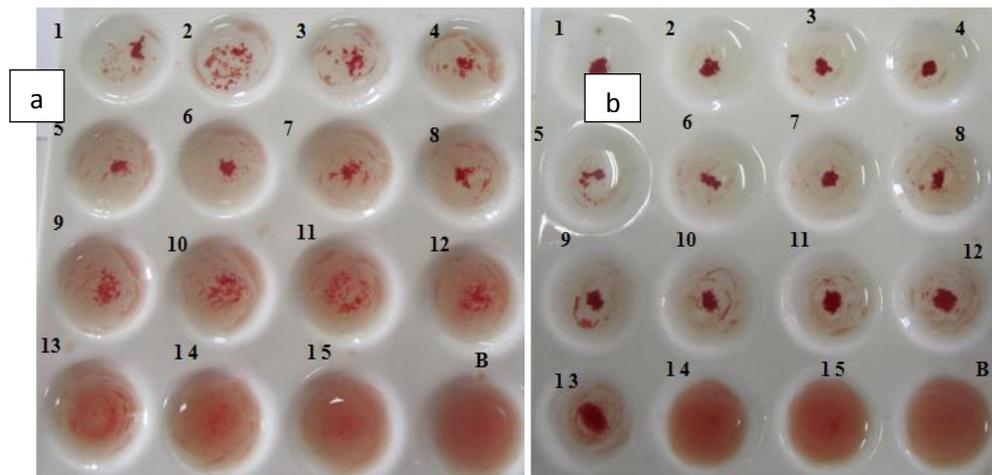


Fig. 1. Actividad hemaglutinante de *P. vulgaris*L. var. ñuña, “ñuña” a temperatura ambiente sobre grupo sanguíneo tipo “A”. (a) extracto crudo, (b) lectina pre purificada

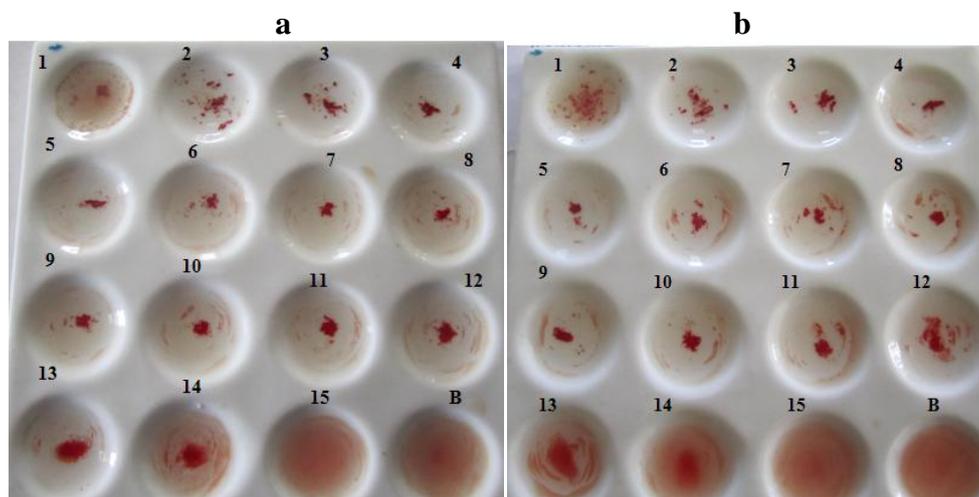


Fig. 2. Actividad hemaglutinante de *P. vulgaris*L. var. ñuña, “ñuña” a temperatura ambiente sobre grupo sanguíneo tipo “B”. (a) extracto crudo (b) lectina pre purificada

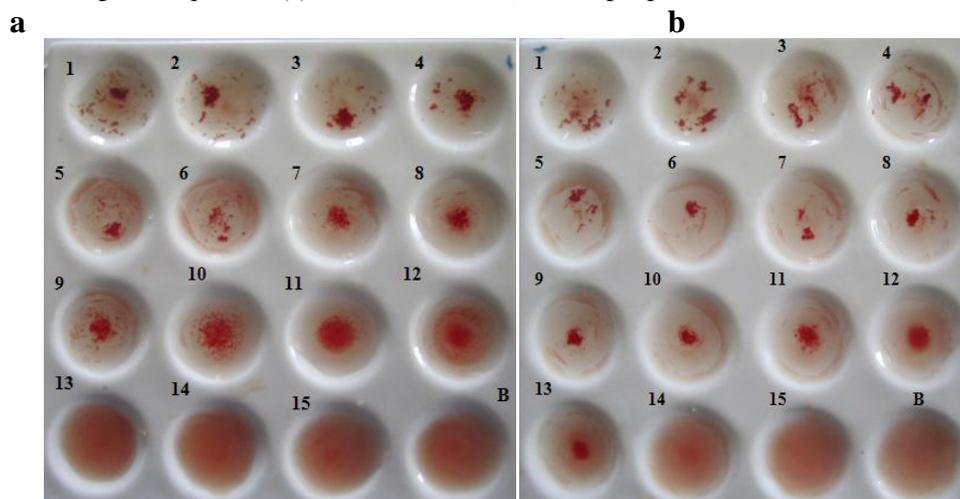


Fig. 3. Actividad hemaglutinante de *P. vulgaris*L. var. ñuña, “ñuña” a temperatura ambiente sobre grupo sanguíneo tipo “O”.(a) Extracto crudo (b) Lectina pre purificada

a

b

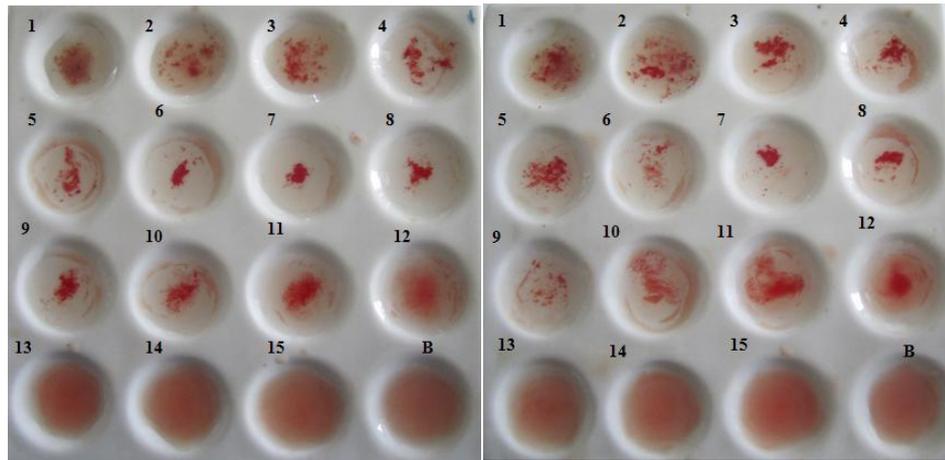


Fig. 4. Actividad hemaglutinante de *P. vulgaris* L. var. ñuña, “ñuña” a temperatura ambiente sobre grupo sanguíneo tipo “AB”. (a) Extracto crudo (b) Lectina pre purificada

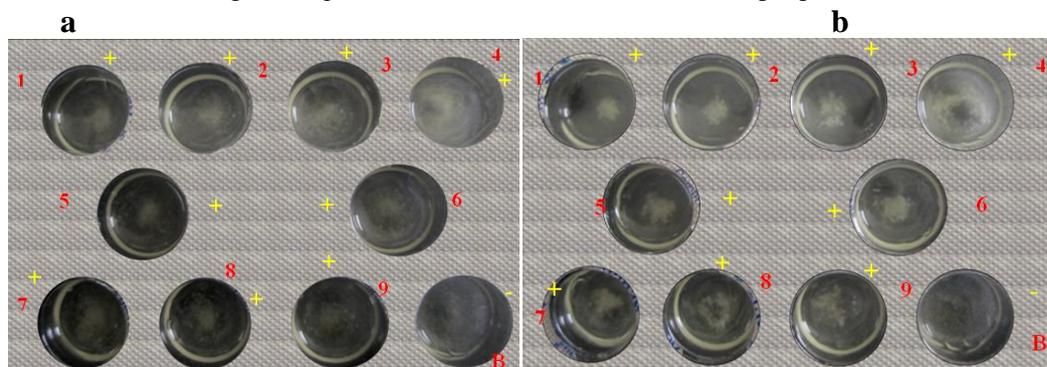


Fig. 5. Actividad aglutinante de la lectina de *P. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” sobre a) *C. albicans* en PBS. b) *S. cerevisiae* en PBS.

Leyenda: (+) Aglutinación (-) No aglutinación

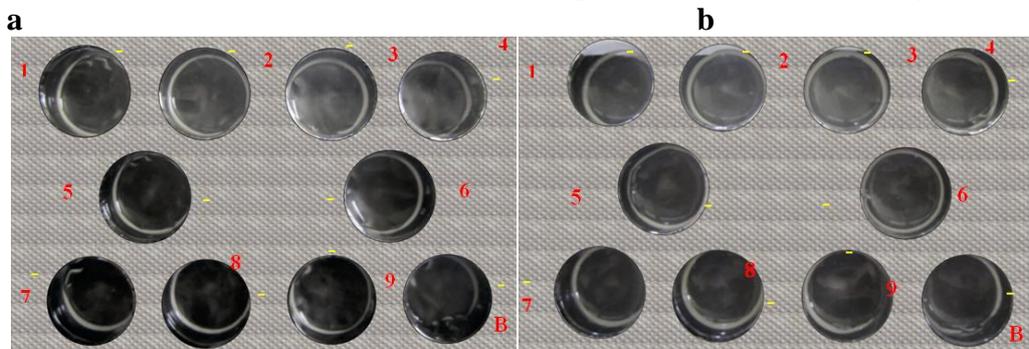


Fig. 6. Actividad no aglutinante de la lectina de *P. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” sobre a) *C. albicans* en PBS. b) *S. cerevisiae* en PBS.

Leyenda: (+) Aglutinación (-) No aglutinación

DISCUSIÓN

Los resultados nos permiten afirmar que las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” presentan lectinas con actividad hemaglutinante en glóbulos rojos de los diferentes grupos sanguíneos (ABO). Esto nos permite afirmar que la lectina de *Ph. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” no presenta especificidad para los grupos sanguíneos ABO de glóbulos rojos humanos. También se puede afirmar que semillas de *Ph. vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” presentan lectinas con actividad aglutinante sobre *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y Levaduras rojas.

Una gran diversidad de lectinas han sido aisladas y caracterizadas de diferentes especies vegetales y/o animales. Estos estudios han permitido identificar que existe una gran similitud estructural entre las lectinas de una misma familia. En algunos casos se ha demostrado que las lectinas son capaces de reconocer carbohidratos en una determinada configuración o secuencia de carbohidratos, es decir, que las características de especificidad por estructuras sacarídicas también es altamente conservada entre proteínas de una misma especie³. Por otro lado, la pared celular de la levadura es una envoltura remarcadamente gruesa que contiene algo

de 15 a 25 % de la masa seca de la célula. Los principales constituyentes estructurales de la pared celular son polisacáridos (80 – 90 %) principalmente glucanos y mananos, con un menor porcentaje de quitina.

Los glucanos (β – 2,6 y β – 1,3) proporcionan fuerza a la pared celular formando una estructura microfibrilar. Los mananos están presentes como un núcleo α – 1,6 ligado con cadenas laterales α - 1,2 y α - 1,3. La quitina es un polímero de N – acetilglucosamina que representa solo 2 – 4% de la pared celular y principalmente localizada en Bud Sears¹⁷.

Es probable que la capacidad aglutinante de lectina de “ñuña” se deba a la presencia de glucanos, mananos o quitina, estructuras polisacáridas presentes en la pared celular de levaduras, mencionadas anteriormente. En este contexto es interesante resaltar que algunas levaduras de crecimiento filamentosas como es el caso de *Candida albicans* tienen un alto contenido de quitina, mientras que este polisacárido está ausente en muchas especies de levaduras¹⁶.

Conocer cuál es el verdadero receptor de lectina (glucanos, mananos o quitina) será motivo de un posterior estudio.

La lectina de “ñuña” no aglutina a *C. albicans*, cuando ésta es tratada a ebullición por 15 minutos con Glicina – HCl pH 2. En un trabajo sobre aglutinación de estreptococos β – hemolíticos del grupo Lancefield, el tratamiento con glicina a ebullición, mejoró la sensibilidad de los receptores de estreptococos β – hemolíticos a las lectinas de diferentes fuentes¹⁴ resultado diferente al presente estudio donde se demuestra la total pérdida de sensibilidad a las lectinas de “ñuña” es probable que la pérdida de sensibilidad se deba a la hidrólisis que experimentan estas estructuras polisacáridas en sus enlaces beta glucosídicos por efecto del calor en medio ácido.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales del presente informe la lectina obtenida de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña”:

- Presenta actividad con efecto hemaglutinante sobre glóbulos rojos humanos tipo A, B, AB y O expuestos a temperatura ambiente.
- Presenta actividad aglutinante sobre *Candida albicans* expuestos a temperatura ambiente.
- Las suspensiones de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *levadura roja* tratadas con PBS, glicina – HCl sometidas a ebullición por 15 min pierden la capacidad de aglutinarse con la lectina de ñuña.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández D., Martín G., Rodríguez de Pablos V. y Ganem B. Aplicaciones de las lectinas. Rev. Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1999; 15(2):91-5
2. Van Driessche E., De Cupere F., Cruz E., Machado J. y Beeckmans S. Lectinas de origen vegetal: definiciones, métodos de purificación y aplicaciones. Universidad Central de Las Villas. 2000; 19 (2): 147-54.
3. Hernández C, Pérez C, Martínez M, Ortiz B. y Martínez G. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de la interacción proteína – carbohidrato. Revista de Educación Bioquímica. Universidad Autónoma de México. 2005; vol. 24. p. 21 – 27.
4. Sharon, N. and H. Lis. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. Glycobiology. 2004; 14(11): 53R – 62R
5. Castillo V, Abdullaev F. Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. Rev. Invest Clin. 2005; 57 (1): 55 – 64.
6. Sharon, N. y H. Lis. Lectins cells agglutinating and sugar – specific proteins. Science. 1972; 177: 949 – 58.
7. Teixeira E, Napimoga M, Carneiro V, De Oliveira T, Cunha R, Havt A, Martins J, Pinto V, Gonçalves R, Cavada B. In vitro inhibition of Streptococci binding to enamel acquired pellicle by plant lectins. Journal Appl Microbiol. 2006; 101(1): 111-6.
8. Schaefer R, Keller K, and Doyle R. Lectins in Diagnostic Microbiology: Use of Wheat Germ Agglutinin for Laboratory Identification of Neisseria gonorrhoeae. Journal Of Clinical Microbiology. 1979; 10 (5): 669-672
9. Moreira R, Perrone J. Purification and Partial characterization of a Lectin from *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiology. 1977; 59: 783-787.
10. Flores A. Extracción de Lectinas a partir de *Phaseolus vulgaris* L. var. ñuña “ñuña” y su efecto hemaglutinante en eritrocitos humanos. Tesis. 2008
11. Coelho Da Silva, Goés A, De Azevedo R. Isolation and Partial characterization of a lectin from *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. Ex. Steua. 2001; 13 (3): 262 – 69.
12. Curtis A, Cerril W. Methods in immunology and Immunochemistry. Volume II. 4ta Ed. Edit Academic Press, Inc. New Cork. 1978; 271 – 73.
13. Horst Feldmann. A short compendium on basic features and navel aspects. Yeast molecular Biology. Adolf – Butenandt – Institute University of Munich. 2005
14. Kellens J, Jacobs J, Peumanst W. and Stobberingh E. The agglutination of *p*-haemolytic streptococci by lectins. Journal Med. Microbiol. Vol. 39; 1993: 440-445.
15. Cruz B, Camarena M, Pierre B, Huaranga J, Blas S. Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.). 2009. Vol. 27 (1); p. 29 – 40.

16. Panizo M. y Reviákina V. Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2001; 21 (1)
17. Moyes A. and Young. H. An analysis of lectin agglutination as a means of sub-dividing gonococcal serovars. Journal. Med. Microbiol. 1992; 37: 51-55.

CORRESPONDENCIA:

Julio César Arellano Barragán

Centro Laboral: Departamento de Química Biológica Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

Dirección

San Francisco 386 Urb. San Salvador

Teléfono

293477-949016816

E-mail: jcab442@hotmail.com