

LISINA E METIONINA EM RAÇÕES À BASE DE MILHO COMUM E MILHO OPACO-2, PARA POEDEIRAS*

Paulo Cezar Gomes
Dirceu Jorge da Silva
Marly Lopes Tafuri
Martinho de Almeida e Silva**

1. INTRODUÇÃO

O milho constitui excelente fonte de energia, e os estudos sobre sua proteína foram intensificados após verificação feita por MERTZ *et alii* (8) de que o gene opaco-2 melhorava sua composição química, aumentando, principalmente, os teores de dois aminoácidos essenciais, lisina e triptófano.

É premissa aceita, em geral, que resultados negativos podem ser esperados em produção de ovos, ganho de peso, consumo de alimento, conversão alimentar, tamanho dos ovos e características reprodutivas das aves, se não forem atendidas, de maneira adequada, suas exigências em proteína, qualitativa e quantitativamente.

Inúmeros são os experimentos que têm por objetivo o estudo dos aminoácidos em rações de aves e de outras espécies animais, e muitos pesquisadores têm-se preocupado com os efeitos de suas deficiências e de seu uso em níveis elevados.

MURAMATSU *et alii* (9), em estudos com ratos, fizeram suplementação de dietas usando 18 aminoácidos e encontraram, para todos eles, se em altos níveis, efeitos adversos, que se refletiam no crescimento dos animais, em diferentes intensidades.

A literatura registra muitos trabalhos conduzidos com aves, como o de BIELY e MARCH (2), que estudaram rações de postura com milho e trigo, suplementadas com lisina e metionina, e o de DEATON e QUISENBERRY (4), que estudaram suplementação de rações de milho ou de sorgo com diversos aminoácidos. Justificam-se, portanto, com base em muitos trabalhos experimentais, pesquisas que visem a obter informações sobre influência de diferentes níveis de aminoácidos em rações de aves em postura.

Muitos estudos foram realizados com o milho opaco-2 em rações de poedeiras, visando à qualidade protéica e ao elevado teor de lisina desse milho; entretanto, nem todos apresentaram respostas satisfatórias.

O presente trabalho destina-se ao estudo do efeito do uso de diferentes níveis de lisina em rações de postura, à base de milho comum ou de milho opaco-2, com níveis

* Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências para obtenção do grau de «Magister Scientiae». Projeto n.º 41323 do Conselho de Pesquisa da U.F.V.

Recebido para publicação em 10-02-1977.

** Respectivamente, Técnico da EMBRAPA e Professores Titular, Adjunto e Titular da U.F.V. (Os Professores são bolsistas do CNPq).

protéicos subótimos suplementados ou não com metionina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas instalações da Seção de Avicultura da Universidade Federal de Viçosa, no período de 26 de janeiro a 25 de abril de 1976.

As aves foram alojadas em gaiolas individuais, dentro de um galpão de 12 x 9 metros, coberto com telha francesa, com piso de tijolos, cercado de tela de aço e convenientemente desinfetado antes do período pré-experimental.

As gaiolas foram numeradas de maneira que se obtivesse a produção individual de ovos das aves, sendo realizada a coleta todos os dias, às 16 horas, aproximadamente.

As pesagens dos ovos foram feitas durante os quatro últimos dias de cada um dos três meses do período experimental e as aves foram pesadas no início e no final do experimento.

A ração foi fornecida à vontade, com duas distribuições diárias, e havia água corrente em bebedouros apropriados.

O consumo de ração foi determinado para cada tratamento e a eficiência alimentar foi obtida dividindo-se a taxa de postura, multiplicada pelo peso médio dos ovos, pelo consumo da ração.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com nove tratamentos, três repetições e oito aves por unidade experimental, num total de 216 aves. Adotou-se como critério de blocos a percentagem de postura obtida no período pré-experimental de 11 dias.

Foram utilizadas rações de milho comum e milho opaco-2, às quais foi adicionado farelo de soja até o nível de 12% de proteína. As rações foram ou não suplementadas com metionina até o nível de 0,53% recomendado pelo N.A.S. (10) e, a algumas delas, adicionou-se lisina, de modo que esse aminoácido se situasse acima das recomendações (N.A.S., 10).

Assim, os nove tratamentos testados foram:

- T1 — Milho comum não suplementado com metionina.
- T2 — Milho comum suplementado com metionina até 0,53%.
- T3 — Milho opaco-2 não suplementado com metionina.
- T4 — Milho opaco-2 suplementado com metionina até 0,53%.
- T5 — Milho comum com adição de lisina (até 0,92%), não suplementado com metionina.
- T6 — Milho comum com adição de lisina (até 0,92%), suplementado com metionina até 0,53%.
- T7 — Milho opaco-2 com adição de lisina (até 1,03%), não suplementado com metionina.
- T8 — Milho opaco-2 com adição de lisina (até 1,03%), suplementado com metionina até 0,53%.
- T9 — Testemunha constituída de milho comum e farelo de soja, com 15% de proteína, suplementada com metionina até 0,53%.

Nos Quadros 1 e 2 encontram-se os resultados das análises de matéria seca e proteína bruta e de aminoácidos do farelo de soja e dos milhos comum e opaco-2. No Quadro 3, a composição do suplemento de vitaminas e minerais utilizados.

A composição das rações experimentais está descrita no Quadro 4.

As análises de proteína bruta foram feitas pelo método clássico de Kjeldahl, segundo A.O.A.C. (1).

Considerando que poedeiras têm, no verão, maior necessidade de cálcio, forneceu-se às aves ostra moída, além da quantidade normal contida na ração. Esta suplementação foi feita nos comedouros, à vontade, de modo que as aves pudessem satisfazer suas necessidades.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos tratamentos utilizados durante todo o período experimental encontram-se no Quadro 5.

3.1. Produção de Ovos

Observou-se tendência para melhores resultados em produção de ovos com

QUADRO 1 - Teores de matéria seca e proteína bruta dos ingredientes das rações*

Ingredientes	Matéria seca %	Proteína bruta %
Milho comum	88,2	10,1
Milho opaco-2	87,6	10,5
Farelo de soja	88,7	49,3

* Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da U.F.V.

QUADRO 2 - Composição em aminoácidos do milho comum, milho opaco-2 e farelo de soja, em percentagem*

	Milho opaco-2	Milho comum	Farelo de soja
Lisina	0,382	0,237	3,085
Histidina	0,207	0,248	1,208
Arginina	0,606	0,443	3,826
Aspártico	0,974	0,607	5,899
Treonina	0,307	0,343	2,023
Serina	0,543	0,512	2,873
Glutâmico	1,751	2,234	10,384
Prolina	0,834	0,919	2,625
Glicina	0,486	0,351	2,112
Alanina	0,619	0,736	2,243
Cistina	0,134	0,161	0,429
Valina	0,246	0,461	1,905
Metionina	0,200	0,231	0,550
Isoleucina	0,133	0,237	1,695
Leucina	0,728	1,277	3,820
Tirosina	0,345	0,390	1,849
Fenilalanina	0,361	0,462	2,523
Triptófano**	0,080	0,050	0,840

* Análise realizada na Escola de Veterinária da U.F.M.G.

** FONSECA (5).

QUADRO 3 - Composição do suplemento vitamínico e mineral, por 2 quilogramas*

Ingredientes	Quantidade
Terramicina	10.000 mg
Vitamina A	10.000.000 UI
Vitamina D ₃	2.000.000 UI
Vitamina E	5.000 UI
Vitamina K	2.000 mg
Vitamina B ₂	5.000 mg
Vitamina B ₁₂	10 mg
Niacina	25.000 mg
Ácido Pantotênico	4.600 mg
Colina	200.000 mg
Manganês	33.000 mg
Cobre	2.000 mg
Cobalto	200 mg
Ferro	20.000 mg
Zinco	44.000 mg
Iodo	1.000 mg
Hidroxi-butil-tolueno	100.000 mg
Veículo q.s.p.	2.000 g

* Premix "PFIZER" para poedeiras.

suplementação de metionina, à medida que se elevava o nível de lisina.

Alguns autores admitem níveis de lisina, em rações para poedeiras, mais elevados que os recomendados pela N.A.S. (10). De acordo com SCOTT *et alii* (11), a lisina pode estar presente nas rações de postura até 0,75%, ao passo que o teor de aminoácidos sulfurados deve ser de 0,53%.

A suplementação de metionina, na ração de milho comum, não foi eficiente quando a lisina se encontrava abaixo da recomendação da N.A.S. (10). Isto pode ser explicado pela importância desses dois aminoácidos na nutrição de poedeiras. Segundo HARMS (7), em rações de milho e soja a metionina é o primeiro aminoácido limitante e a lisina, o segundo. Assim sendo, ao se manter um desses aminoácidos abaixo do nível recomendado para poedeiras, é de esperar que piores resultados ocorram.

O milho opaco-2, em rações para poedeiras, em níveis subótimos de proteína e com suplementação de metionina, tem apresentado, se comparado ao milho comum, os melhores resultados (CHI e SPEERS, 3 e TAFURI *et alii*, 13). As aves que receberam o milho opaco-2 (12% de proteína), com nível elevado de lisina (1,03%) e de metionina (0,53%), apresentaram produção média de ovos superior ($P > 0,05$) à de todos os tratamentos de milho comum com 12% de proteína, e, mesmo não diferindo estatisticamente do testemunha, apresentaram re-

QUADRO 4 - Composição das rações experimentais

Ingredientes	Tratamentos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Milho comum, %	84,78	84,55	-	-	84,13	83,95	-	-	77,1
Milho opaco-2, %	-	-	85,50	85,31	-	-	85,10	84,72	-
Farol de soja, %	7,00	7,10	6,27	6,27	7,15	7,20	6,30	6,35	14,70
Farinha de ossos, %	1,88	1,88	1,90	1,90	1,89	1,89	1,91	1,92	1,70
Farinha de ostras, %	5,64	6,63	5,63	5,63	5,63	5,63	5,63	5,62	5,71
premix, %	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de sódio, %	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,60	0,50	0,50
DL-metionina, %	-	0,13	-	0,19	-	0,13	-	0,19	0,09
L-lisina HCl, %	-	-	-	-	0,50	0,50	0,50	0,50	-
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Proteína, %	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	15,00
Energia metabolizável, kcal/kg	3,038	3,033	3,044	3,038	3,020	3,015	3,032	3,020	2,972
Cálcio, %	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75
Fósforo, %	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Lisina, %	0,42	0,42	0,53	0,53	0,92	0,92	1,03	1,03	0,64
Metionina + Cistina, %	0,40	0,53	0,35	0,53	0,40	0,53	0,35	0,53	0,54
Triptófano, %	0,12	0,12	0,18	0,18	0,12	0,12	0,18	0,18	0,18

QUADRO 5 - Resultados dos tratamentos utilizados durante todo o período experimental (1)

Características	Tratamentos					
	Milho comum			Milho opaco-2		
	% Lisina	0,92(4)	% Lisina	0,53	% Lisina	1,03(4)
% Metionina	0,42	% Metionina		% Metionina	% Metionina	% Metionina
	0,40	0,53(4)	0,40	0,53(4)	0,35	0,53(4)
Produção de ovos, %	43,13 ^{cd}	37,55 ^d	42,35 ^{cd}	50,00 ^{bcd}	45,66 ^{cd}	54,51 ^{abc}
Consumo de ração, g/ ² ave/dia	91,79 ^{bc}	76,43 ^d	89,67 ^C	91,16 ^C	93,69 ^{bc}	96,15 ^{bc}
Eficiência alimentar	0,24 ^d	0,26 ^{cde}	0,25 ^{de}	0,30 ^{bcd}	0,26 ^{cde}	0,31 ^{bc}
Peso dos ovos, g	52,02 ^a	52,76 ^a	51,65 ^a	53,66 ^a	53,41 ^a	54,69 ^a
Relação entre os pesos médios, inicial e final das aves	1,048 ^{ab}	1,101 ^a	0,975 ^{bc}	0,973 ^{bc}	0,965 ^c	0,985 ^{bc}

(1) Médias de uma mesma linha acompanhadas da mesma letra não diferem estatisticamente ($P > 0,05$), pelo teste de Duncan.

(2) Percentagem de postura x peso médio dos ovos produzidos em g/consumo de ração em g.

(3) Testemunha, constituída de milho comum e farelo de soja, com 15% de proteína.

(4) Níveis obtidos pela adição de L-lisina HCl ou de DL-metionina.

sultados ligeiramente superiores. Isto talvez possa ser explicado pelo melhor equilíbrio de aminoácidos nas rações formuladas à base de milho opaco-2, com 12% de proteína. Estes dados confirmam a importância da suplementação de metionina, principalmente nos altos níveis de lisina.

Verifica-se, no Quadro 2, que a diferença entre os dois tipos de milho não se encontra apenas no teor de lisina. Também os aminoácidos não essenciais podem ter efeito significante na qualidade da proteína. Espera-se, então, que a diferença de qualidade protéica entre os milhos opaco-2 e comum determine respostas diferentes das aves à alimentação que lhes é fornecida, conforme foi verificado neste trabalho, em que apenas lisina e metionina foram estudadas.

3.2. Consumo Alimentar

Verificou-se que as aves alimentadas com rações à base de milho opaco-2 apresentaram tendência para maior consumo de ração do que as alimentadas com milho comum, em nível subótimo de proteína, embora os resultados tenham sido inferiores aos do tratamento testemunha (15% de proteína).

De modo geral, a suplementação com metionina das rações de ambos os milhos tendeu a melhorar o consumo alimentar das aves, observando-se, contudo, um consumo bem reduzido das aves que receberam ração de milho comum com baixa lisina (0,41%) e suplementação de metionina (0,53%).

Entre os tratamentos à base de milho opaco-2 não foram observadas diferenças significativas, mas apenas tendência para melhor consumo de ração com elevado nível de lisina (1,03%) e de metionina (0,53%).

Sanahuja *et alii* e Sanahuja e Harper, citados por TAFURI *et alii* (13), relataram que há uma relação entre deficiência de aminoácidos e apetite e que os animais respondem às dietas carentes de um ou mais de um aminoácido com acentuado decréscimo no consumo de alimento, mas como ocorre esse mecanismo ainda não foi definitivamente explicado. De acordo com YOSHIDA *et alii* (14), um desequilíbrio conduz a uma incorporação mais eficiente do aminoácido limitante nos tecidos, com decréscimo de sua concentração no plasma sanguíneo, poucas horas depois da ingestão da dieta desequilibrada. Isto poderia resultar num estímulo ao centro regulador do apetite, e a ingestão de alimento seria, subsequentemente, deprimida.

Talvez a melhor qualidade da proteína do milho opaco-2 tenha contribuído para maior consumo da ração à base deste milho em relação ao milho comum, em nível subótimo de proteína (12%).

As aves do tratamento testemunha, com 15% de proteína, apresentaram consumo alimentar médio significativamente superior ($P < 0,05$) ao consumo das demais rações, apenas não diferindo, estatisticamente, da ração de opaco-2 com alta lisina (1,03%) e 0,53% de metionina.

3.3. Eficiência Alimentar

Observaram-se, com relação à eficiência alimentar, melhores resultados nos tratamentos que receberam suplementação de metionina, e esta melhoria acen-tuava-se à medida que se elevava o nível de lisina na ração.

As aves que receberam ração de milho opaco-2 suplementada com metionina obtiveram melhor eficiência alimentar que as alimentadas com milho comum, em nível subótimo de proteína, estando este resultado de acordo com FONSECA (6) e TAFURI *et alii* (13).

Observou-se que as aves que recebiam rações de milho opaco-2 ou de milho comum, com níveis de metionina abaixo das recomendações da N.A.S. (10) apresentavam baixa eficiência alimentar, a despeito do nível de lisina, não havendo diferença significativa entre esses tratamentos.

Quando se fez adição de lisina ao milho opaco-2 até o nível de 1,03% e a metionina permaneceu abaixo das recomendações da N.A.S. (10), verificou-se a mais baixa eficiência alimentar. Entretanto, sendo corrigida essa deficiência com a suplementação de metionina, obteve-se o melhor resultado, havendo diferença significativa ($P < 0,05$) com relação aos demais tratamentos, superando mesmo o testemunha. Isto vem ressaltar a importância da suplementação de metionina, principalmente quando a lisina se encontra acima das recomendações da N.A.S. (10).

3.4. Peso dos Ovos

Tendência para melhores resultados, ao nível de 12% de proteína, foi observada quando se fez a suplementação de metionina ao milho opaco-2.

As aves que receberam rações à base de milho opaco-2, com alta lisina (1,03%) e metionina abaixo das recomendações (0,35%), produziram ovos significativamente ($P < 0,05$) menos pesados que os produzidos pelas aves que receberam os demais tratamentos. Entretanto, este efeito desfavorável sobre peso de ovos desapareceu quando se fez a suplementação com metionina.

Supõe-se que o excesso de lisina e a deficiência de metionina influem no rendimento das poedeiras, quanto ao peso dos ovos. BIELY e MARCH (2) concluíram que, para tamanho de ovos, o balanço de aminoácidos é mais importante que o nível de proteína.

3.5. Relação entre o Peso Médio Inicial e o Peso Final das Aves

As aves alimentadas com as rações à base de milho comum, 0,41% de lisina, com e sem suplementação de metionina, perderam peso durante o período experimental, não havendo diferença significativa entre esses dois tratamentos.

Observou-se, no presente experimento, que as aves alimentadas com milho comum em baixo nível de lisina perderam peso e que aquelas alimentadas com o mesmo milho em alto nível de lisina ganharam peso, nos dois níveis de metionina. O mesmo não aconteceu com o milho opaco-2, ou seja, as aves alimentadas com baixa lisina tenderam a ganhar mais peso que as alimentadas com alta lisina, não havendo diferença significativa entre esses tratamentos.

SOUSA (12) verificou que as rações com milho comum produziram aves mais pesadas que as formuladas à base de milho opaco-2, ao nível de 15% de proteína, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, ao nível de 5%. No presente trabalho, em nível subótimo de proteína, não foi observada essa superioridade do milho comum sobre o opaco-2.

Supõe-se que, também, tenha havido melhor utilização de aminoácidos pelas aves alimentadas com os mais altos níveis de lisina. Por outro lado, pode-se supor que, ao se elevar o nível de lisina, sem suplementação de metionina, crie-se um desequilíbrio prejudicial ao desempenho das aves.

A análise das variáveis estudadas indica que as aves alimentadas à base de milho opaco-2, com 1,03% de lisina e metionina dentro das exigências da N.A.S. (10), apresentaram, em geral, resultados comparáveis aos das aves que receberam a ração testemunha, superando-os, estatisticamente ($P < 0,05$), apenas em eficiência alimentar.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O experimento foi conduzido com a finalidade de estudar os efeitos de diferentes níveis de lisina em rações de postura à base de milho comum ou de milho opaco-2, em nível proteico subótimo, suplementadas ou não com metionina.

Um total de 216 poedeiras foi usado, e o delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com nove tratamentos, três repetições e oito aves para cada unidade experimental.

As rações com 12% de proteína continham basicamente milho comum, ou milho opaco-2, farelo de soja, minerais e vitaminas, sendo ou não suplementadas com metionina (até 0,53%). Foi adicionado a algumas rações 0,50% de lisina, situando-se, assim, esse aminoácido, acima da recomendação da N.A.S. (10).

A ração testemunha, com 15% de proteína, era constituída de milho comum, farelo de soja, minerais e vitaminas, suplementada com metionina.

De acordo com os resultados obtidos, chegou-se às seguintes conclusões:

1. Os melhores resultados, em produção de ovos, foram obtidos com o uso da ração de opaco-2, com nível elevado de lisina (1,03%) e metionina dentro da exigência descrita pela N.A.S. (10), superando todos os demais tratamentos ($P < 0,05$), embora não tenha havido diferença significativa para o testemunha.
2. Foi observada tendência para maior consumo das rações formuladas à base de milho opaco-2, em nível subótimo de proteína, e essa tendência aumentou, à medida que se eleva o nível de lisina na ração, mantendo-se o nível de

metionina dentro do requerido pela N.A.S. (10). Consumo reduzido foi verificado no tratamento de milho comum, com baixa lisina (0,41%) e suplementação de metionina (0,53%), o que diferiu estatisticamente ($P < 0,05$) dos demais tratamentos.

3. A melhor eficiência alimentar ($P < 0,05$) foi obtida por aves que receberam ração à base de milho opaco-2, com 1,03% de lisina e 0,53% de metionina.
4. O peso de ovos das aves alimentadas com ração à base de milho opaco-2, com 1,03% de lisina e 0,35% de metionina, foi menor do que o das aves dos demais tratamentos ($P < 0,05$).
5. A adição de 0,50% de lisina à ração de milho opaco-2, com 12% de proteína e suplementação com metionina, produziu efeito comparável ao da ração testemunha, com 15% de proteína, composta de milho comum e farelo de soja.

5. SUMMARY

This experiment was carried out at the Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil, to study the effects of methionine and lysine levels in a suboptimal 12% protein ration based on normal and opaque-2 corn on the performance of laying hens.

A total of 216 birds were used in a completely randomized block design, with 9 treatments, 3 replications and 8 laying hens per experimental unit. The treatments were: normal corn and opaque-2 corn either non-supplemented or supplemented with methionine (up to 0.53%), lysine (up to 0.92%) and methionine + lysine. A corn-soybean diet with 15% protein + methionine (up to 0.53%) was used as a control.

The data obtained allowed the following conclusions:

1. The treatment with opaque-2 corn and high total lysine (1.03%) and methionine completing Nacional Academy of Science (USA) standards resulted in better egg production than any other treatment.
2. A tendency toward higher feed consumption was observed in the treatments with suboptimal protein level with opaque-2 corn. This tendency was more evident in the treatments with high total lysine and methionine levels similar to N.A.S. recommendations. A reduced feed consumption ($P < 0,05$) was noted in the normal corn treatments with low lysine level (0.41%) and methionine (0.53%) as compared with all the other treatments.
3. The best feed efficiency ($P < 0,05$) was obtained with the birds that received the opaque-2 corn diet with 1.03% lysine and 0.53% methionine levels.
4. The birds fed opaque-2 corn diets with 1.03% lysine and 0.35% methionine levels showed lower egg weight ($P < 0,05$) than the birds in the remaining treatments.
5. Opaque-2 corn diets with 12% protein + lysine and methionine meeting the N.A.S. standard resulted in similar performance to that with control normal corn-soybean diet with 15% protein.

6. LITERATURA CITADA

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. Eleventh Edition, Washington, D.C. 1015 p. 1970.
2. BIELY, J. & MARCH, B.E. Protein level and amino acid balance in the laying ration. *Poultry Sci.*, 43(1):98-105. 1964.
3. CHI, M.S. & SPEERS, G.M. A comparison of nutritional value of high lysine, floury-2 and normal corn for laying hen. *Poultry Sci.*, 52(3):1138-1147. 1973.

4. DEATON, J.W. & QUISENBERRY, J.H. Effects of amino acid supplementation of low protein corn and grain sorghum diets on the performance of egg production stocks. *Poultry Sci.*, 44(4):943. 1965.
5. FONSECA, A.F. *O milho opaco-2 na alimentação de galinhas reprodutoras leves*. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 1974. 47 p. (Tese M.S.).
6. FONSECA, J.B., ROGLER, J.C., FEATHERSTON, W.R. & CLINE, T.R. Nutritional evaluation of opaque-2 corn and safflower meal in poultry rations. *Poultry Sci.*, 48(5):1807. 1969.
7. HARMS, R.H. Evaluation of amino acid requirements of laying hens. *Poultry Sci.*, 45(4):1090. 1966.
8. MERTZ, E.T., BATES, L.S. & NELSON, O.E. Mutant gene changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145(3629):279-280. 1964.
9. MURAMATSU, K., ODAGIRI, H., MORISHITA, S. & TAKENCHI, H. Effect of excess levels of individual amino acid on growth of rats fed casein diets. *J. Nutrition*, 101(9):1117-1125. 1971.
10. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. National Research Council. 6th ed. 1971. *Nutrient Requirement of Poultry*. Washington D.C., 28 p.
11. SCOTT, M.L., NESHEIM, M.C. & YOUNG, R.J. *Nutrition of the chicken*. Ithaca, N.Y. 1969.
12. SOUSA, J.C. *Efeito da adição de lipídeos em dietas de milho opaco-2 para poedeiras*. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 1972. 40 p. (Tese M.S.).
13. TAFURI, M.L., CAMPOS, J.L., SILVA, D.J. & SILVA, M.A. Estudos dos efeitos do milho opaco-2 sobre produção de ovos e coloração de gemas. *Revista Ceres*, 18(95):33-52. 1971.
14. YOSHIDA, A., LEUNG, P.M.B., ROGERS, Q.R. & HARPER, A.E. Effect of amino acid imbalance on the fate of the limiting amino acid. *J. Nutrition*, 89(1):80-90. 1966.