

EFEITO DO USO DE MILHO RICO EM LISINA NA REPRODUÇÃO DE GALINHAS LEGORNE BRANCAS*

Francisco Aloizio Fonseca
José Brandão Fonseca
Paulo Rubens Soares
Dirceu Jorge da Silva**

1. INTRODUÇÃO

O gen mutante opaco-2 acarreta mudanças no teor de aminoácidos da proteína do milho, causando um aumento substancial do conteúdo de lisina (24, 27). Essa elevação do conteúdo de lisina do milho opaco-2 é atribuída a uma redução na relação entre zeína e glutelina, bem como a um aumento do conteúdo de lisina nas frações ácido solúvel e álcool solúvel (zeína).

A superioridade nutricional do milho opaco-2, quando comparado com o milho comum, tem sido demonstrada com ratos (25), com porcos (6, 8, 28), com aves e com o homem (3).

Diversos estudos têm mostrado o valor do milho opaco-2 na alimentação das aves; entretanto, os poucos trabalhos relativos à alimentação de galinhas poedeiras relatam resultados conflitantes (5, 13, 30, 31). Os trabalhos conduzidos procuraram estudar os efeitos do uso do milho opaco-2 sobre a produção e o peso dos ovos. Contudo, não se dispõe, ainda, de dados que permitam uma avaliação completa da influência do milho opaco-2 sobre a reprodução das aves, principalmente com relação à fertilidade e à eclodibilidade dos ovos férteis.

O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito do milho opaco-2, comparado com o milho comum, sobre a alimentação de galinhas reprodutoras leves, no que se refere a produção e peso dos ovos, conversão alimentar, fertilidade, eclodibilidade e mortalidade embrionária.

2. MATERIAL E METODOS

O experimento foi realizado nas instalações da Seção de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura da Universidade Federal

* Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à Universidade Federal de Viçosa, como uma das exigências para obtenção do grau de «Magister Scientiae» em Zootecnia.

Recebido para publicação em 26-04-1977.

** Respectivamente, Professor Assistente e Professores Titulares da Universidade Federal de Viçosa. Os três últimos autores são bolsistas do CNPq.

de Viçosa.

Foram utilizadas 264 aves Legornes, no 4.º mês de postura, distribuindo-se 10 galinhas e um galo em cada box, num total de 240 fêmeas e 24 machos.

As aves foram alojadas nos 24 boxes de um galpão de 12 x 10 metros, coberto de telhas francesas, com piso de cimento, dividido em 4 fileiras de 7 boxes cada um. Cada box, com dimensão de 1,45 x 1,50 metros, tinha um comedouro tubular, um conjunto de ninho de três bocas, um bebedouro e piso de cama de maravalha.

O experimento obedeceu a um esquema fatorial 2 x 2 para estudo de dois tipos de milho (comum e opaco-2) e dois níveis de proteína da ração (12 e 15%). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com seis repetições. As aves foram agrupadas em blocos, de conformidade com a postura observada nos primeiros sete dos 16 dias do período pré-experimental. O fornecimento das rações experimentais foi antecipado de 9 dias em relação ao início da coleta dos dados.

A primeira pesagem dos ovos foi realizada 30 dias após o início do período experimental; as subseqüentes, a intervalos de 30 dias. Em cada ocasião foram pesados todos os ovos coletados, durante três dias consecutivos, usando-se uma balança com 0,5 g de precisão.

Para cada incubação os ovos foram armazenados por um período de mais ou menos 6 dias, sendo aproveitados todos os que estavam em condição de serem incubados. Foram feitas seis incubações durante todo o experimento, tendo sido incubado um total de 3.642 ovos.

No 7.º dia de incubação procedeu-se à ovoscopia, com a finalidade de avaliar o índice de fertilidade e de mortalidade embrionária nas primeiras semanas.

Os ovos férteis viáveis continuaram na incubação, a fim de se verificar a eclodibilidade, que foi expressa como porcentagem de eclosão a partir dos ovos férteis.

Determinou-se, também, o consumo de ração em cada lote, e a conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo total de ração pelo total de dúzias de ovos produzidos.

Fez-se a pesagem dos lotes no início e no final do experimento, utilizando-se a relação entre o peso inicial e o peso final das aves para verificar ganhos ou perdas de peso.

As rações dos diferentes tratamentos continham quantidades iguais de farinha de ostras, farinha de ossos, sal comum e premix (suplemento vitamínico e mineral). Contudo, eram constituídas de quantidades variáveis de milho comum, milho opaco-2 e farelo de soja.

Características dos tratamentos:

- T1 — Ração com 15% de proteína, à base de milho comum, farelo de soja, vitaminas e minerais.
- T2 — Ração com 12% de proteína, à base de milho comum, farelo de soja, vitaminas e minerais.
- T3 — Ração com 15% de proteína, à base de milho opaco-2, farelo de soja, vitaminas e minerais.
- T4 — Ração com 12% de proteína, à base de milho opaco-2, farelo de soja, vitaminas e minerais.

No Quadro 1 encontram-se os teores de matéria seca, proteína bruta e gordura dos alimentos usados no experimento, enquanto o Quadro 2 mostra os teores de ácido graxo dos óleos dos milhos comum e opaco-2.

Utilizaram-se os dados de VARA (32) (Quadro 3) para calcular o teor de aminoácidos das rações (Quadro 5).

As análises de proteína bruta dos milhos e da soja foram feitas pelo método clássico de Kjeldahl (1) e a de matéria seca de acordo com LENKEIT e BECKER (19). O suplemento vitamínico e mineral utilizado (Quadro 4) satisfaz as exigências nutricionais das poedeiras (26). O cloreto de sódio, a farinha de ostras e a farinha de ossos foram utilizados de acordo com as tabelas da N.A.S. (26). Para as análises de cálcio e fósforo dos dois últimos ingredientes fez-se a determinação da matéria seca e o preparo de solução mineral por «via seca», segundo a A.O.A.C. (1). O fósforo foi determinado segundo a técnica de FISKE e SUBBAROW (11), e o cálcio foi determinado em espectrofotômetro de absorção atômica, Perkin-Elmer, modelo 290-B.

A composição contida na embalagem do concentrado comercial de vitaminas e microminerais encontra-se no Quadro 4.

O Quadro 5 mostra a composição das rações experimentais.

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

	M.S. (%)	Proteína (%)	Gordura (%)
Milho comum	86,76	9,30	2,24
Milho opaco-2	86,83	9,80	2,38
Farelo de soja	85,88	46,00	0,60

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios da porcentagem de postura encontram-se no Quadro 6. Houve um aumento da produção de ovos quando se aumentou o nível de proteína das rações. O milho comum mostrou-se superior ao milho opaco-2 somente ao nível de 15% de proteína. Nas rações que continham 12% de proteína o tipo de milho não influiu na produção de ovos.

Possivelmente, o excesso de alguns aminoácidos nas rações com 15% de proteína bruta, formuladas à base de milho opaco-2, provocou inibição de outros, indispensáveis para a manutenção do mecanismo de postura.

Um excesso de lisina na dieta induz uma deficiência de arginina, por inibir a utilização desse aminoácido, e, deste modo, outras inibições poderiam ocorrer, segundo JAMES (17) e FONSECA (12). BRAY (2), em estudos de desequilíbrio de aminoácidos, observou que as dietas com níveis altos de lisina e triptófano ocasionaram diminuição da produção de ovos.

Em níveis subótimos de proteína, o milho opaco-2 mostra-se superior ao milho comum para produção de ovos, quando se faz a suplementação de metionina (5, 31). Embora não tenha havido diferenças significativas quanto à produção de ovos das galinhas alimentadas com milho, opaco-2 e comum, quando alimentadas com rações com 12% de proteína, houve tendência de melhor produção das aves que receberam o milho opaco-2. Possivelmente, isso decorreu do maior teor de lisina nas rações formuladas à base de milho opaco-2, ao nível de 12% de proteína. A ração preparada com milho comum, ao nível de 12% de proteína, era aparentemente deficiente em lisina.

O consumo das rações foi influenciado apenas pelo nível protéico, sendo maior quando as rações continham 15% de proteína. As aves alimentadas com milho comum consumiram em média, diariamente, 98,2 e 108,0 g das rações que continham, respectivamente, 12 e 15% de proteína. As aves alimentadas com milho opaco-2 consumiram diariamente 95,9 e 102,6 g das rações que continham, respectivamente, 12 e 15% de proteína.

Não houve diferença significativa quanto ao consumo das rações que continham os dois tipos de milho, embora tenha havido tendência para maior consumo das rações de milho comum. Os resultados da conversão alimentar seguiram as mesmas tendências observadas para os dados de consumo.

A conversão, medida em quilogramas de ração consumida por dúzia de ovos,

QUADRO 2 - Teor de ácido graxo do óleo dos milhos*

	Palmítico	Estearico	Oléico	Linoléico	Linolênico
	%	%	%	%	%
Milho comum	14,45	2,40	32,69	47,56	2,90
Milho opaco-2	15,23	1,62	33,41	46,18	3,56

* Dados de SOUSA (30)

QUADRO 3 - Teores de aminoácidos do milho comum, do milho opaco-2 e do farelo de soja*

Aminoácidos (%)	Milho Comum	Milho Opaco-2	Farelo de Soja
Lisina	0,21	0,48	2,98
Histidina	0,35	0,36	1,16
Isoleucina	0,44	0,33	2,67
Arginina	0,52	0,59	3,06
Ácido aspártico	0,68	1,01	-
Leucina	1,70	0,80	3,73
Treonina	0,39	0,36	1,99
Serina	0,54	0,44	-
Ácido glutâmico	2,81	1,86	-
Tirosina	0,57	0,37	0,87
Prolina	1,20	0,85	-
Triptófano	0,05	0,08	0,84
Glicina	0,39	0,48	-
Fenilalanina	0,40	0,41	2,04
Alanina	0,95	0,60	-
Cistina	0,11	0,20	0,60
Valina	0,57	0,53	2,50
Metionina	0,22	0,16	0,52

* Dados de VARA (32).

QUADRO 4 - Composição do suplemento vitamínico e mineral*
(Fórmula completa para uma tonelada de ração)

Ingredientes	Quantidades
Terramicina	10.000 mg
Vitamina A	6.000.000 UI
Vitamina D ₃	950.000 ICU
Vitamina E	4.000 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
Hidróxido-butil-tolueno	100.000 mg
Veículo (q.s.p.)	2.000 g

* Premix Pfizer para poedeiras.

QUADRO 5 - Composição das rações experimentais

Ingredientes	Tratamentos			
	1	2	3	4
Milho comum	70,40	78,60		
Milho opaco-2	-	-	71,40	79,70
Farelo de soja	18,40	10,20	17,40	9,10
Farinha de ostras	6,00	6,00	6,00	6,00
Farinha de ossos	4,50	4,50	4,50	4,50
Premix	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Proteína (%)	15,00	12,00	15,00	12,00
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2.823	2.901	2.833	2.911
Cálcio (%)	2,84	2,81	2,83	2,80
Fósforo total (%)	0,81	0,78	0,80	0,78
Fósforo inorgânico (%)	0,56	0,55	0,56	0,55
Lisina (%)	0,68	0,46	0,85	0,65
Metionina + cistina (%)	0,42	0,36	0,44	0,36
Triptofano (%)	0,18	0,12	0,19	0,13

QUADRO 6 - Produção de ovos, fertilidade, eclodibilidade e peso das aves¹

Tratamentos		Postura (%)	Fertilida- de (%)	Eclodibi- lidade (%)	Peso das A- ves (relação entre o peso inicial e o peso final)
Tipo de Milho	Nível de Proteína (%)				
Comum	12	58,0 ^c	96,4 ^a	80,8 ^a	1,05 ^a
	15	74,7 ^a	94,1 ^a	76,8 ^{ab}	0,98 ^b
Opaco-2	12	60,6 ^c	75,8 ^c	53,2 ^c	1,00 ^b
	15	70,2 ^b	89,3 ^b	66,7 ^b	0,99 ^b

1. As médias não seguidas da mesma letra, nas colunas, são estatisticamente diferentes (P/0,05), pelo teste de Duncan.

foi de 2,2 e 1,9 para o milho comum e de 2,1 e 1,9 para o milho opaco-2, respectivamente, para os níveis de 12 e 15% de proteína na ração.

As rações que continham 15% de proteína tiveram melhor conversão que as que continham 12%, não havendo diferença quanto ao tipo de milho.

Os melhores resultados de consumo e conversão alimentar obtidos com as rações que continham 15% de proteína podem ser explicados pelo fato de que com esse nível de proteína as necessidades nutricionais das aves são satisfeitas, principalmente com relação ao suprimento dos aminoácidos mais limitantes.

O peso dos ovos foi influenciado pelo nível de proteína das rações e pelo tipo de milho. As aves que consumiram milho comum puseram ovos com peso médio de 55,7 a 58,3 g e as que consumiram milho opaco-2 puseram ovos com peso de 52,7 a 55,8 g, para os níveis de 12 e 15% de proteína, respectivamente.

Os melhores resultados obtidos com o milho comum, nos dois níveis protéicos, com relação ao peso dos ovos, estão de acordo com FONSECA *et alii* (13) e SOUSA (30).

Vários fatores podem ser considerados como causa do maior tamanho dos ovos das aves alimentadas à base de milho comum.

JENSEN *et alii* (18) concluíram que o milho comum era fonte de um fator não identificado de aumento do peso dos ovos. Portanto, fatores desconhecidos existentes no milho comum podem ser responsáveis pelo maior tamanho dos ovos.

Outro fator seria o melhor equilíbrio de aminoácidos, segundo March e Biely, citados por MENGE *et alii* (23). Segundo esses autores, o balanço de aminoácidos é fator limitante do tamanho do ovo. CHI e SPEERS (5) sugeriram que o peso dos ovos foi influenciado pela presença de aminoácidos limitantes nas rações, como foi demonstrado pelo aumento do tamanho dos ovos, causado pela suplementação de metionina nas dietas de milho comum e milho com alto teor de lisina.

Segundo SHUTZE e JENSEN (29) e MENGE *et alii* (23), o ácido linoléico é essencial para a obtenção de ovos mais pesados. Entretanto, aparentemente não houve diferenças de teor de ácido linoléico entre as rações do presente experimento (Quadro 2).

Outro fator que influi no peso dos ovos é o nível de proteína da ração. Realmente, no presente experimento, observou-se maior peso dos ovos das aves alimentadas com rações que continham 15% de proteína na ração, para ambos os milhos estudados. Fisher e Shapiro, citados por MENGE *et alii* (23), verificaram que o tamanho do ovo foi influenciado pelo aumento do consumo de proteína.

Os dados referentes à fertilidade e à eclodibilidade dos ovos férteis encontram-se no Quadro 6. Elas foram influenciadas pelo nível de proteína da ração e pelo tipo de milho.

Tanto a fertilidade como a eclodibilidade dos ovos férteis produzidos pelas aves alimentadas à base de milho comum foram superiores às dos ovos produzidos pelas aves que receberam ração à base de milho opaco-2, nos dois níveis de proteína estudados.

Os ovos das aves alimentadas à base de milho opaco-2 também apresentaram pior desenvolvimento embrionário, com alta taxa de mortalidade embrionária na primeira semana, principalmente nas rações com 12% de proteína.

A taxa de mortalidade embrionária dos ovos produzidos pelas aves alimentadas com milho comum foi de 4,6 e 6,0% e a dos ovos produzidos pelas aves alimentadas com milho opaco-2 foi de 23,5 e 15,2%, para os níveis de 12 e 15% de proteína da ração, respectivamente.

Observando-se os dados referentes a todos os níveis de proteína, conclui-se que os piores índices de reprodução foram obtidos com rações que continham milho opaco-2.

De modo geral, a superioridade do milho opaco-2 sobre o milho comum tem sido observada em rações com níveis subótimos de proteína, quando há suplementação de metionina, no que se refere a crescimento e produção. Essa superioridade do milho opaco-2 tem sido atribuída à melhor qualidade de sua proteína, à qual os animais são mais sensíveis, quando alimentados com rações com níveis baixos de proteína. Com níveis mais altos de proteína essa superioridade torna-se menos evidente.

É bem possível que as diferenças entre os dois milhos, com relação aos índices de reprodução obtidos, tenham sido causadas pela falta de suplementação de metionina, refletindo-se, de maneira mais intensa, na qualidade da proteína das rações que continham milho opaco-2.

Segundo alguns autores, o desenvolvimento embrionário e a eclodibilidade

podem ser influenciados pelo efeito da dieta sobre a composição protéica dos ovos. A eclodibilidade dos ovos férteis foi aumentada quando se adicionou metionina a uma dieta de milho e soja, 22 e 10. No presente experimento não se fez suplementação de metionina, apresentando todos os tratamentos carência desse aminoácido.

Por outro lado, HEYWANG *et alii* (14) e INGRAM *et alii* (15) não constaram efeito benéfico da suplementação de metionina sobre a eclodibilidade. MARCH e BIELY (21) verificaram que a eclodibilidade não foi influenciada pela dietas cujos níveis de lisina e metionina eram diferentes.

INGRAM *et alii* (15) concluíram também que a eclodibilidade não foi alterada pela composição de aminoácidos das rações empregadas para estudos da relação entre triptófano e lisina na produção e eclodibilidade dos ovos.

Segundo CRAVENS (7), a composição de aminoácidos dos ovos não é influenciada pela dieta recebida pela ave ou, então, a mudança na composição do ovo é insuficientemente para resultar num desenvolvimento embrionário satisfatório. Esse autor mostrou que a deficiência de leucina, triptófano e metionina não influenciou na eclodibilidade.

Sabe-se que o ácido linoléico é essencial para máxima produção de ovos, maior peso do ovo, maior fertilidade e melhor eclodibilidade dos ovos da galinha poedeira (23, 29). No entanto, desde que os milhos contenham quantidades apreciáveis de ácido linoléico, não é de esperar uma deficiência desses nutrientes nas rações empregadas.

MENGE *et alii* (23) obtiveram uma melhor fertilidade dos ovos e menor mortalidade embrionária com a suplementação de ácido linoléico em rações carentes desse ácido graxo. Por outro lado, MACHLIN e GORDON (20) afirmaram que aves adultas não são sensíveis às deficiências de ácidos graxos essenciais porque possuem grandes reservas de ácido linoléico no tecido adiposo e baixa taxa de esgotamento em ácido araquidônico.

MENGE *et alii* (23) sugeriram que, para se produzir uma severa deficiência de ácidos graxos essenciais em aves, é necessário um prolongado período de depleção, bem como a administração de uma dieta com baixo nível de ácido linoléico.

Segundo CARD e NESHEIM (4), uma deficiência parcial de vitamina B6 (piridoxina) provoca redução do apetite em aves adultas, queda na postura e baixa eclodibilidade dos ovos. Como não havia vitamina B6 no premix vitamínico e no mineral utilizado no preparo das rações experimentais, poder-se-ia suspeitar de uma deficiência dessa vitamina nas rações de milho opaco-2, diante dos resultados com elas obtidos (redução no consumo de ração, queda na postura, ao nível de 15% de proteína, e baixa fertilidade e eclodibilidade dos ovos). Entretanto, não se encontraram, na literatura disponível, dados que indicassem o teor de piridoxina no milho opaco-2.

No Quadro 6 também se encontram dados sobre o peso das aves.

A relação entre o peso médio inicial e o peso médio final indica que houve perda de peso apenas das aves alimentadas com a ração que continha o milho comum com 12% de proteína.

A deficiência protéica da ração de milho comum que continha apenas 12% de proteína deve ter sido responsável pela queda de peso das aves. O mesmo não ocorreu com o milho opaco-2, pelo fato de que naquele nível de proteína este milho apresenta uma combinação de aminoácido melhor que a do milho comum, de acordo com TAFURI *et alii* (31) e FONSECA *et alii* (13).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A presente pesquisa foi realizada no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura da Universidade Federal de Viçosa, com o objetivo de estudar o efeito do milho opaco-2 na alimentação de galinhas reprodutoras leves, no que se refere a produção e tamanho dos ovos, conversão alimentar, fertilidade dos ovos, eclodibilidade e mortalidade embrionária.

Foram utilizadas 264 aves Legorne, estando as poedeiras no 4.º mês de postura, distribuindo-se 10 galinhas e um galo em cada lote, alojadas num galpão de alvenaria. O experimento obedeceu a um esquema fatorial 2 x 2, para estudo de dois tipos de milho (comum e opaco-2) e dois níveis de proteína da ração (12 e 15%). O delineamento experimental foi o de blocos completos casualizados, com seis repetições.

No estudo foram empregadas rações constituídas basicamente de milho e soja, com 12 e 15% de proteína, tanto à base de milho comum como de milho opaco-2.

Dos resultados obtidos chegou-se às seguintes conclusões:

1. As aves alimentadas com as dietas que continham 15% de proteína produziram mais ovos que as alimentadas com as rações que continham 12% de proteína.

Houve diferença entre os dois milhos estudados em favor do milho comum somente quando comparados nas rações com 15% de proteína. Quando se usaram rações com 12% de proteína o tipo de milho não incluiu na produção de ovos.

2. Houve maior consumo das rações com 15% de proteína, e observou-se tendência para maior consumo das rações formuladas à base de milho comum que das formuladas à base de milho opaco-2.

3. As rações que continham 15% de proteína resultaram em melhor conversão alimentar que as que continham 12% de proteína, não havendo diferença quanto ao tipo de milho.

4. As aves alimentadas com milho comum produziram ovos mais pesados ($P < 0,05$) que as alimentadas com milho opaco-2, nos dois níveis de proteína.

5. A fertilidade dos ovos produzidos pelas aves alimentadas com milho comum foi superior ($P < 0,05$), nos dois níveis de proteína.

6. A eclodibilidade dos ovos férteis não foi alterada pelo tipo de milho da ração.

7. A mortalidade embrionária durante a primeira semana foi maior ($P < 0,05$) nas rações à base de milho opaco-2.

8. O tratamento à base de milho comum, ao nível de 12% de proteína na ração, resultou em aves mais leves ($P < 0,05$).

5. SUMMARY

This experiment was designed to study the effect of opaque-2 corn on the reproductive performance of White Leghorn hens. Egg production, egg weight, feed conversion, egg fertility, hatchability of fertile eggs and embryonic mortality were observed.

A total of 264 Leghorn birds were used, distributed in flocks of ten hens and one cock per pen. The layers were in their fourth month of egg production. The experiment was carried out at the Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

A 2 x 2 factorial design was followed for the study of normal and opaque-2 corn and two levels of protein in the diets (12% and 15%). The design was completely randomized with six replications.

The following results were obtained.

1. Egg production was higher for the 15% protein rations. At that protein level, egg production was better with normal corn. At the 12% protein level, there was no significant difference between the two varieties.

2. With 15% protein, there was greater feed consumption, and a tendency for greater consumption of rations made with normal corn.

3. There was no significant difference in the feed conversion for the two types of corn; however, the 15% protein diets resulted in better feed conversion.

4. The birds fed normal corn laid heavier eggs ($P < 0,05$) than those fed opaque-2 maize at both protein levels.

5. The fertility of the eggs laid by the birds fed normal corn was higher ($P < 0,05$) at both protein levels.

6. The hatchability of the fertile eggs was higher with the diets containing normal corn, although there was no significant difference at the 15% protein level.

7. Embryonic mortality during the first week was higher in the eggs laid by the hens fed opaque-2 diets.

8. At the 12% protein level, the birds fed rations containing normal maize were lighter ($P < 0,05$).

6. LITERATURA CITADA

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 11th. ed. Washington, D.C., 1970. 1015 p.
2. BRAY, D.J. Amino acid imbalance in low protein corn-soya laying diets. *Poultry Sci.*, 43:1305, 1964.

3. BREASSANI, R. La calidad proteica del maiz con gen opaco-2. *Turrialba*, 18:8-13. 1968.
4. CARD, L.E. & NESHEIM, M.C. *Poultry production*. 10th ed. Lea e Febiger. Philadelphia, 1966. 400 p.
5. CHI, M.S. & SPEERS, G.M. A comparison of the nutritional value of high lysine, floury-2 and normal corn for the laying hen. *Poultry Sci.*, 52:1138-1147. 1973.
6. COSTA, P.M.A., MELLO, H.W., MAYROSE, V.B., PACHECO, L. & PATO, J.M. Valor nutritivo do milho opaco-2 para suínos. *Rev. Ceres*, 18(95):1-22. 1971.
7. CRAVENS, W.W. The effect of leucine on egg production hatchability. *Poultry Sci.*, 27:562-570. 1948.
8. CROMWELL, G.L., PICKETT, R.A., CLINE, T.R. & BEESSON, W.M. Nitrogen balance and growth studies of pigs fed opaque-2 and normal corn. *J. Anim. Sci.*, 28(4):478-483. 1969.
9. CROMWELL, G.L., ROGLER, J.C., FEATHERSTON, W.R. & PICKETT, R.A. Nutritional value of opaque-2 corn for the chick. *Poultry Sci.*, 46:705-712. 1967.
10. DAGHIR, N.J., AKRABAWI, S.S. & ROTTENTEM, K. Methionine supplementation of breeder diets. *Poultry Sci.*, 43:1106-1109. 1964.
11. FISKE, C.A. & SUBBAROW, J. The calorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66:375. 1925.
12. FONSECA, J.B. *Evaluation of the protein quality of selected varieties of corn and sorghum for poultry*. Lafayette, Ind. U.S.A. Purdue University Library, 1969. 108 p. (Ph.D. Thesis).
13. FONSECA, J.B., FEATHERSTON, W.E., ROGLER, J.C. & CLINE, T.R. A comparison of the nutritive value of opaque-2 and normal corn for the laying hen. *Poultry Sci.*, 49:532-537. 1970.
14. HEYWANG, B.W., VAVICH, M.G. & REID, B.L. Supplemental methionine in a sixteen percent protein diet for laying chickens. *Poultry Sci.*, 42:245-249. 1963.
15. INGRAM, G.R., CRAVENS, W.W., ELVEHKEM, C.A. & HALPIN, J. G. Relation of tryptophan and lysine to egg production, hatchability and composition of the protein of hen's eggs. *Poultry Sci.*, 29:793-803. 1950.
16. INGRAM, G.R., CRAVENS, W.W., ELVEHKEM, C.A. & HALPIN, J.G. The methionine requirement of the laying hen. *Poultry Sci.*, 30:431-434. 1951.
17. JAMES, D.J. Lysine-arginine antagonism in the chick. *J. Nutrition* 84(4):313-321. 1964.
18. JENSEN, S.L., JOHN, A., RAMON, E.F. & MCGINNIS, J. Studies on an unidentified factor necessary for maximum egg weight. *Poultry Sci.*, 36:1130. 1967.
19. LENKEIT, W. & BECKER, N. *Inspecção e apreciação de forrageiras*. Lisboa, Ministério da Economia de Portugal, 1952 p. 1956. (Boletim Pecuário n.º 2).
20. MACHLIN, L.J. & GORDON, R.S. Effect of dietary fat on the fatty acid composition of eggs and tissues of the hen. *Poultry Sci.*, 31:1340-1343. 1962.
21. MARCH, B.E. & BIELY, J. The effects of protein level and amino acid balance in wheat-based laying rations. *Poultry Sci.*, 51:547-557. 1972.

22. MEHRING, A.L. & TITUS, H.W. The effect of adding methionine and vitamin B₁₂ singly and together to a corn-soy-bean diet for laying chickens. *Poultry Sci.*, 33:1191-1197. 1954.
23. MENGE, H., CALVERT, C.C. & DENTON, C.A. Further studies of the effect of linoleic acid on reproduction in the hen. *J. Nutrition*, 86:115-119. 1965.
24. MERTZ, E.T., BATES, L.S. & NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145(3229):279-280. 1964.
25. MERTZ, E.T., VERON, O.A. & BATES, L.S. Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, 148(3678):1741-1742. 1965.
26. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. National Research Council. *Nutrient requirements of poultry*. 6th. ed. Washington, D.C., 1971. 28 p.
27. NELSON, O.E., MERTZ, E.T. & BATES, L.S. Second mutant gene affecting amino acid pattern of maize endosperm protein. *Science*, 150:1469-1470. 1965.
28. PICKETT, R.A. Opaque-2 corn in swine nutrition. *Proceedings of the High Lysine Corn Conference*. Washington, Corn Industry Research Foundation, 1966, p. 19-22.
29. SHUTZE, J.V. & JENSEN, L.S. Influence of linoleic acid on egg weight. *Poultry Sci.*, 42:931-924. 1963.
30. SOUSA, J.C. *Efeito da adição de lipídeos em dietas de milho opaco-2 para poedeiras*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1972, 50 p. (Tese M.S.).
31. TAFURI, M.L., CAMPOS, J., SILVA, D.J. & SILVA, M.A. Estudo dos efeitos do milho opaco-2 sobre produção de ovos e coloração de gemas. *Rev. Ceres* 18(95):33-52. 1971.
32. VARA, M.O. *Determinação do valor nutritivo do milho opaco-2 na alimentação de frangos de corte*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1972. (Tese M.S.).