

## INFLUÊNCIA DA PROTEÍNA CONTIDA NAS RAÇÕES SOBRE AS PROTEÍNAS SÉRICAS DE AVES DE CORTE<sup>1/</sup>

Marly Lopes Tafuri<sup>2/</sup>

George Henrique Kling de Moraes<sup>3/</sup>

Maurílio Alves Moreira<sup>3/</sup>

José Brandão Fonseca<sup>2/</sup>

Walter Brune<sup>3/</sup>

### 1. INTRODUÇÃO

O teor de proteína das dietas tem sido apontado como um dos fatores que influenciam os níveis das proteínas séricas (6). A adaptação do metabolismo protéico ao suprimento de aminoácidos tem motivado várias pesquisas, e uma das proteínas cujo «turnover» tem sido objeto de estudos é a albumina sérica (5, 11).

A influência da alimentação foi demonstrada, em pintos, por LEVEILLE e SAUBERLICH (7), que se referiram aos níveis das proteínas séricas e da albumina como indicadores da reserva protéica no organismo animal.

No presente estudo foram feitas comparações, qualitativas e quantitativas, entre as proteínas séricas de aves de corte alimentadas, até 21 ou 56 dias de idade, com rações que continham diferentes níveis de proteína e aminoácidos.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. As Aves e Sua Alimentação

Rações à base de milho comum ou milho opaco-2 foram formuladas de modo que contivessem 15%, nível subótimo, ou 22% de proteína bruta, nível que atende às exigências de aves em fase inicial de crescimento, de acordo com o NAS-NRC

<sup>1/</sup> Recebido para publicação em 27-12-1984.

<sup>2/</sup> Departamento de Zootecnia da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

<sup>3/</sup> Departamento de Química da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

(12). As rações com baixo teor protéico, 15%, eram deficientes em lisina e metionina, mas as rações com 22% de proteína tiveram a deficiência em metionina corrigida por suplementação. A todas as rações foram incorporados minerais e vitaminas (Quadro 1).

Uniformizados os pesos iniciais, foram formados doze lotes de dez machos Hubbard: quatro lotes criados em galpão de alvenaria, dividido em boxes, sobre cama de maravalha, até os 56 dias de idade, e oito lotes criados em bateria metálica Peter Sime, até os 21 dias. Os lotes foram distribuídos por sorteio, e as aves passaram a receber as rações a partir do primeiro dia de vida, conforme o Quadro 2.

As aves criadas no chão receberam, até a idade de 56 dias, as dietas experimentais descritas no Quadro 1, acrescidas apenas de um coccidiostático.

Todas as aves receberam água e alimento à vontade.

## 2.2. Obtenção das Amostras e Análises Qualitativas e Quantitativas do Soro Sangüíneo

No fim da terceira semana, amostras de sangue, obtidas por punção cardíaca de três machos, por lote, foram coletadas e mantidas em repouso durante tempo suficiente para a coagulação. Em seguida, o soro decantado foi centrifugado (5.000 rpm/10 minutos), conservando-se o sobrenadante. O mesmo procedimento foi adotado no final da oitava semana, tomando-se, ao acaso, para coleta de sangue, apenas três machos dentre os que receberam cada uma das dietas.

No soro das aves com 21 dias de idade, procedeu-se à dosagem colorimétrica das proteínas séricas totais (PST), em Espectrofotômetro Zeiss-PMQII, usando-se Commassie Blue G-250, conforme a técnica proposta por BRADFORD (2). Como padrão, para essa dosagem, foi usada a fração globulina do soro de aves oriundas de um plantel comercial, obtida por precipitação com sulfato de sódio a 27% e dessalinização em coluna de Sephadex G-25, equilibrada e eluída com ácido fórmico 9%. Para o estabelecimento da curva-padrão, foi usada essa proteína, após liofilização, na concentração de 14 a 140 µg/ml.

Os teores de proteínas séricas foram também determinados em Refratômetro Clínico K. Fuji, com base nas médias de leituras feitas por três pessoas, para cada amostra. A sensibilidade do aparelho é de 0 a 12 g/100 ml ( $\pm 0,2$ ), de acordo com os fabricantes.

Paralelamente, as amostras de soro foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5%, que continha dodecil-sulfato de sódio (PAGE-SDS), utilizando-se a metodologia empregada por MOREIRA *et alii* (9).

Os eletroferogramas, depois da revelação com Commassie Blue R-250, foram lidos em Densitômetro Zeiss-PMQII, determinando-se as áreas delimitadas nos perfis eletroforéticos, com o emprego de um Planímetro Polar Koizumi.

O soro obtido de machos Hubbard, com 21 dias de idade, oriundos de um plantel comercial, foi fracionado em coluna de DEAE-Sephacel, convenientemente equilibrada com tampão acetato de sódio a 0,025M, pH 5,2. Duas frações, F1 e F2, foram eluídas com o mesmo tampão, pH 5,2 e 4,5, respectivamente.

Essas duas frações foram submetidas à eletroforese, juntamente com proteínas padrão: Ribonuclease A (13,7 kDa), Quimotripsinogênio A (25,0 kDa), Ovalbumina (43,0 kDa) e Albumina Sérica Bovina (67,0 kDa), para determinação do peso molecular de algumas proteínas presentes no soro de aves.

No soro das aves com 56 dias de idade foram dosadas as proteínas séricas totais (PST), por refratometria e colorimetria. Uma alíquota de cada soro foi fracionada em coluna de DEAE-Sephacel, tendo a fração albumina (A) sido quantifica-

QUADRO 1 - Composição das rações

Ingredientes	Rações (1)			
	A	B	C	D
Milho comum (%)	80,14	-	62,58	-
Milho opaco-2 (%)	-	79,60	-	62,15
Farelo de soja (%)	16,29	16,83	33,77	34,20
Fosfato bicalcico (%)	2,17	2,17	2,06	2,06
Calcário (%)	0,84	0,84	0,78	0,78
Sai (%)	0,40	0,40	0,40	0,40
Mistura de minerais (%) <sup>(2)</sup>	0,05	0,05	0,05	0,05
Mistura de vitamina (2) Selenmix (%) <sup>(3)</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
DL - Metionina (%)	0,01	0,01	0,01	0,01
	-	-	0,25	0,25
Proteína bruta (%) <sup>(4)</sup>	15,00	15,00	22,00	22,00
Aminoácidos sulfurados (%)	0,44	0,45	0,84	0,84
Lisina (%)	0,66	0,82	1,14	1,28
Cálcio (%)	0,90	0,90	0,90	0,90
Fósforo disponível (%)	0,50	0,50	0,50	0,50
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,057	3,051	2,867	2,863

(1) As rações fornecidas às aves criadas no chão acrescentou-se Pancoxin-Plus (0,05%).

(2) Riolomix aves Roche e Rovimix aves Roche, dosagem recomendada.

(3) Pré-mistura com 1.000 ppm de selênio.

(4) Calculada por meio de teores de proteína bruta, obtidos em análises (Kjeldahl): milho comum, 8,77%; milho opaco-2, 8,50%; farelo de soja, 48,90%.

(5) Exigência corrigida para 0,84% (2.900 kcal EM/kg de ração com 22% de proteína bruta).

QUADRO 2 - Rações utilizadas e distribuição dos lotes experimentais

Rações	Número de lotes	
	Criação <sup>(1)</sup>	Criação <sup>(2)</sup>
	em bateria	em cama
A - Milho comum, 15% de proteína bruta	2	2
B - Milho opaco-2, 15% de proteína bruta	2	-
C - Milho comum, 22% de proteína bruta + metionina	2	2
D - Milho opaco-2, 22% de proteína bruta + metionina	2	-

(1) Período: de 1 a 21 dias de idade das aves.

(2) Período: de 1 a 56 dias de idade das aves.

da em análise colorimétrica. Foram adotados os procedimentos já descritos, utilizando como padrão a Albumina Sérica Bovina.

O teor da fração globulina (G) foi tomado como a diferença PST-A e a relação A/G, calculada.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Eletroforese em PAGE-SDS do Soro Sangüíneo de Machos Hubbard com 21 Dias de Idade

Por eletroforese, em condições desnaturalantes, puderam ser distinguidas pelo menos 13 bandas maiores no soro total e três bandas na fração F2, onde se inclui toda a albumina (Figuras 1 a 4).

TORRES MEDINA *et alii* (19), estudando o soro de machos Hyline, obtiveram, por eletroforese em suporte de acetato de celulose, oito bandas, resolvidas em gel de poliacrilamida como mistura de proteínas. Desse modo, foi obtido, no gel, um total de 16 bandas. Segundo esses autores, têm sido evidenciadas, por eletroforese, de 10 a 19 proteínas no soro sangüíneo de aves.

SINGH (14) conseguiu identificar 20 proteínas no soro de aves, por métodos imunoeletroforéticos.

Podem-se observar, nos eletroferogramas (Figura 3), diferenças entre as aves alimentadas com rações bem supridas de proteína (22%) e as que receberam rações com nível protéico subótimo (15%). Essas diferenças indicam, ainda que qualitativamente, efeito negativo das deficiências nutricionais impostas às aves sobre suas proteínas séricas.

Os valores médios das áreas totais planimetradas, utilizando os perfis eletroforéticos de uma ave por lote, foram de 94,8, 93,4, 126,2 e 140,4 cm<sup>2</sup>, para as aves alimentadas com as rações A, B, C e D, respectivamente.

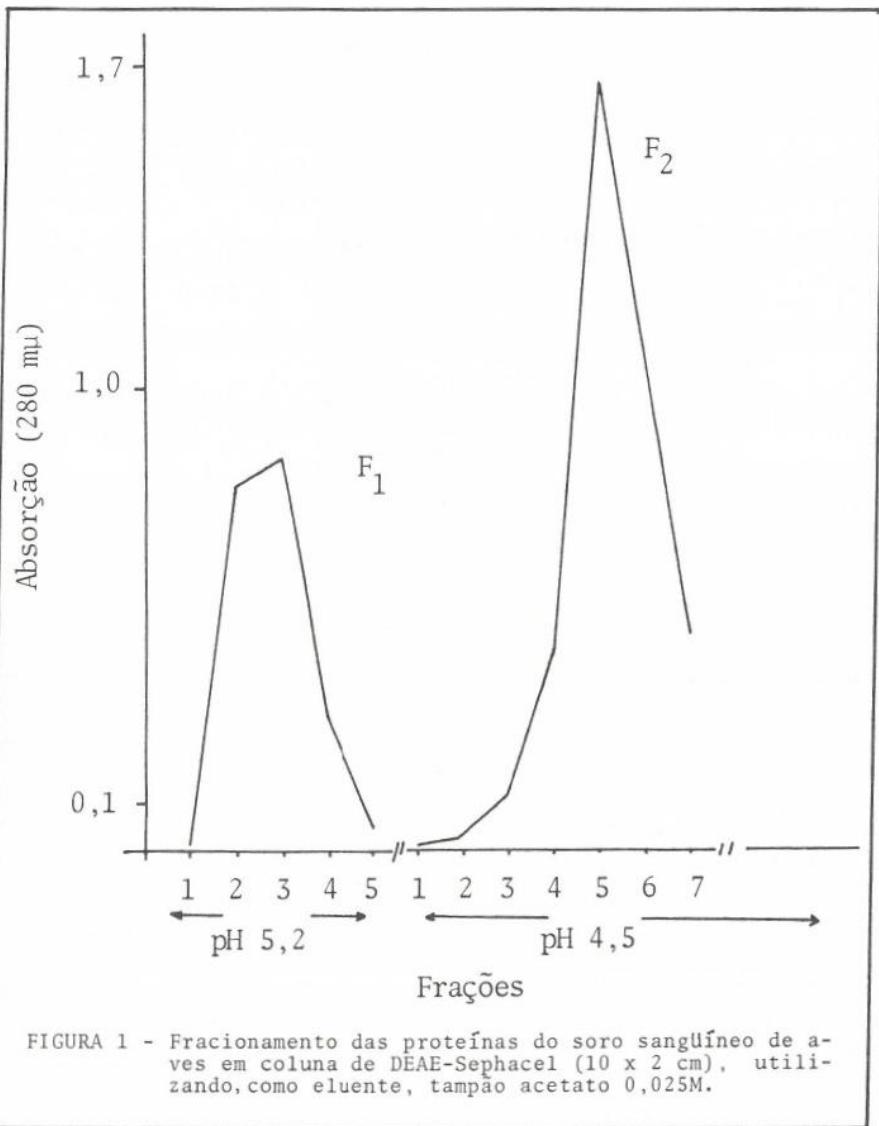


FIGURA 1 - Fracionamento das proteínas do soro sanguíneo de aves em coluna de DEAE-Sephacel (10 x 2 cm), utilizando, como eluente, tampão acetato 0,025M.

Decréscimos de concentração podem ser percebidos nas frações com peso molecular de 56 e 22 kDa, ambas eluídas da coluna de DEAE-Sephacel com tampão, pH 4,5 (F2).

Foram observadas diferenças entre amostras de soro de aves, de mesmo sexo e marca, do mesmo lote experimental. HARRIS e SWEENEY (3) também observaram acentuadas diferenças entre machos Hampshire, com relação à concentração de proteínas séricas, porém a banda identificada como albumina, nos eletroforegramas, não apresentava teores significativamente diferentes nas amostras analisadas.

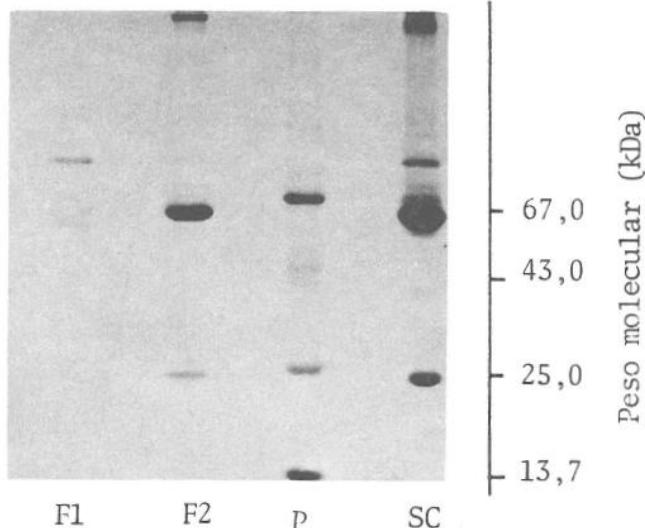


FIGURA 2 - Eletroferogramas das frações protéicas (F1 e F2), das proteínas padrão (P) e do soro sanguíneo de ave proveniente de um plantel comercial (SC).

### 3.2. Dosagens Colorimétrica e Refratométrica de PST em Aves no final da Terceira e da Oitava Semana de Vida

Os resultados das análises constam do Quadro 3, podendo-se verificar que foram influenciados pelas técnicas de dosagem. Os teores de PST determinados por refratometria foram inferiores aos obtidos colorimetricamente, tendendo as diferenças a acentuar-se nas aves mais velhas.

Considerando cada amostra de soro, verificou-se que as diferenças individuais, percebidas na eletroforese, foram mais bem captadas pela colorimetria. Essa observação realça a necessidade da escolha cuidadosa da técnica para estudo de proteínas séricas, principalmente se as diferenças entre tratamentos não forem muito acentuadas.

MORGAN e GLICK (10), trabalhando com aves New Hampshire, verificaram que o nível de proteínas séricas aumenta lentamente com a idade, variando de 2,68 g/100 ml, na primeira semana de vida, a 4,63 g/100 ml, na 12.<sup>a</sup> semana. Teores de proteínas séricas mais altos em aves mais velhas foram também obtidos neste estudo, pelos dois métodos de análise (Quadro 3).

Pelas médias calculadas (Quadro 3), observa-se que os mais altos níveis de proteína nas rações possibilitaram a manutenção de PST em concentrações mais elevadas.

Esse resultado está de acordo com a proposição de WANNERMACHER *et alii* (20). Segundo esses pesquisadores, deficiências de aminoácidos regulam a síntese hepática das proteínas, influenciando o número de ribossomas que a realizam e prejudicando a formação de novos ribossomas ativos. Da mesma forma, ALEXIS *et alii* (1), trabalhando com ratos que receberam dietas com baixo teor protéico, observaram pronunciado decréscimo na síntese de polipeptídios por pre-

QUADRO 3 - Teores (g/lc) ml) de proteína sérica total (PST) e de frações albumina (A), determinados por refratometria (Ref.) ou colorimetria (Col.), e relação albumina/globulinas (A/G) em aves de corte (1)

Raças	Aves com 21 dias de idade						Aves com 56 dias de idade					
	Milho comum			Milho opaco-2			Milho comum			Milho comum		
	Ref.	Col.	Médias	Ref.	Col.	Médias	Ref.	Col.	Médias	Ref.	Col.	G (PST-A)
Proteína bruta (2)	PST	PST	PST	PST	PST	PST	PST	PST	PST	PST	PST	A/G
15	2,72	3,06	2,89	2,76	3,30	3,03	3,80	4,52	4,16	1,79	2,73	0,66
" + metionina	3,18	3,55	3,36	3,04	3,63	3,37	4,18	5,16	4,67	2,19	2,97	0,74
Médias	2,95	3,50	3,15	2,90	3,50	3,20	3,99	4,84	4,42	1,99	2,85	0,70

(1) Foram utilizados o Refratômetro Clínico K.Fuji e o Espectrofotômetro Zeiss - Piqui (cor desenvolvida com Comissie Blue G-250).

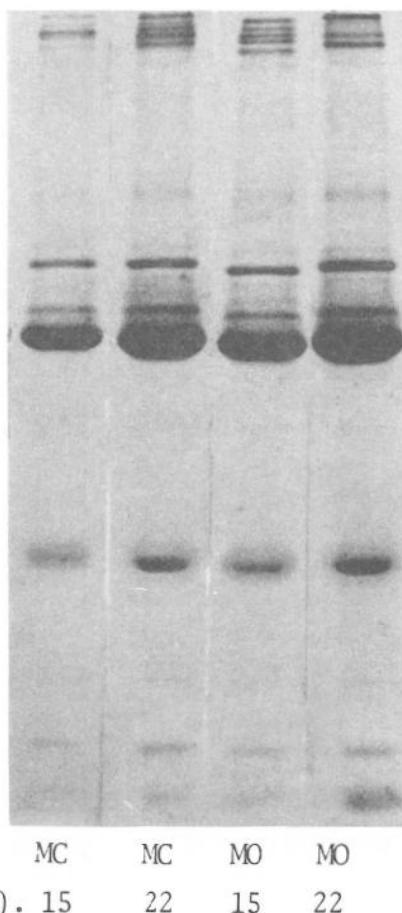


FIGURA 3 - Comparação dos eletroferogramas do soro sanguíneo de aves alimentadas com rações com milho comum (MC) ou milho opaco-2 (MO) e 15 ou 22% de proteína bruta (PB).

parações de ribossomos que mostraram reduzida capacidade de ligar  $^{14}\text{C}$ -aminoacil-t-RNA.

Não se pretendeu, neste estudo, avaliar o desempenho das aves; foi notada, porém, acentuada diferença de crescimento entre os lotes que receberam 15 e 22% de proteína bruta nas rações. Diante disso, pode-se admitir que as aves alimentadas com rações mais ricas em proteína puderam manter-se em melhor condição nutricional, tal como indicam os níveis de proteínas séricas, o que lhes possibilitou melhor resultado de ganho de peso.

Essa possibilidade está de acordo com o conceito de reserva protéica, proposto por LEVEILLE e SAUBERLICH (7) para explicar a relação linear entre os teores de proteína nas rações e as concentrações de PST, observada em seu trabalho. Em aves com quatro semanas foram determinados teores de PST que cresciam de 2,33 a 3,06 g/100 ml quando o nível de proteína dietética era aumentado de 10 para 25%.

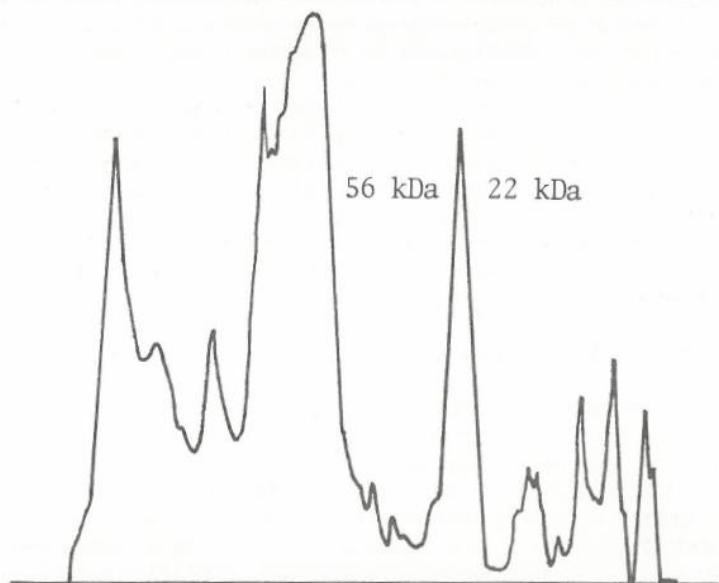


FIGURA 4 - Perfil eletroforético de soro sanguíneo de ave alimentada com ração com milho comum e 22% de proteína bruta, suplementada com metionina.

Pode-se considerar, ainda, que as rações com baixo teor protéico utilizadas neste estudo (A e B) eram deficientes em aminoácidos, o que limitou a síntese protéica pelos animais.

YOKOGOSHI e YOSHIDA (21), estudando, em ratos, o efeito de aminoácidos sobre o perfil de polissomas hepáticos, verificaram que a adição de metionina à dieta reduziu a população de monossomas e dissomas e propuseram que a metionina seria o primeiro aminoácido limitante da síntese de proteínas no fígado. Concluíram os autores que o perfil de polissomas hepáticos pode ser usado como medida para a avaliação da qualidade nutricional das proteínas dietéticas.

O pressuposto de que alimentos diferentes possam influir diferentemente no nível de proteínas séricas, dependendo da qualidade de sua proteína, encontra apoio no experimento de YOKOGOSHI *et alii* (22). Trabalhando com ratos, esses pesquisadores verificaram redução nas frações monométricas e dímeras de ribossomas hepáticos dos animais que receberam proteína de ovo ou caseína. Ao contrário, o uso de dietas com gelatina prejudicava a agregação dos ribossomas.

No presente estudo, entre os ingredientes das rações utilizadas na alimentação das aves com até 21 dias foram incluídos dois tipos de milho, comum e opaco-2, que diferem na composição em aminoácidos (8).

TAFURI (17), trabalhando com aves adultas, que receberam rações, suplementadas com metionina, apenas com milho (comum ou opaco-2 ou comum + lisina), minerais e vitaminas, em comparação com uma dieta testemunha à base de milho comum e farelo de soja, obteve indicação de ser o milho opaco-2 mais efetivo na manutenção do nível de PST que o milho comum.

HESBY *et alii* (14), submetendo porcas gestantes a quatro tratamentos, semelhantes aos utilizados por TAFURI (17), verificaram que o milho opaco-2 favore-

ceu a manutenção de proteínas séricas em mais altas concentrações. Foi observado que os teores de PST e de albumina decresceram significativamente nos animais que receberam o milho comum, em comparação com os alimentados com o milho opaco-2 ou com a ração testemunha.

Neste estudo, verificou-se apenas, por meio de dosagem colorimétrica, leve tendência de as rações com milho opaco-2 possibilitarem mais altos níveis de PST (Quadro 3). Vale considerar que, avaliando o desempenho de aves de corte, em fase inicial de crescimento, alimentadas com rações com 15 ou 22% de proteína bruta, TAFURI *et alii* (18) não puderam concluir pelo mais alto valor nutritivo do milho opaco-2, em relação ao comum, em rações com farelo de soja. Diante dessa informação, não seria de esperar que os dois tipos de milho determinassem diferenças acentuadas nos níveis de PST.

### 3.3. Fração Albumina (A) e Relação Albumina/Globulinas (A/G)

Foram observados menores teores da fração albumina no soro das aves alimentadas com rações com menor nível protéico, em comparação com as que receberam dietas mais ricas nesse nutriente (Quadro 3).

Esse resultado está de acordo com as informações obtidas, neste estudo, dos eletroferogramas do soro de aves com 21 dias e da literatura.

HOFFENBERG (5) referiu-se a um aumento na síntese de albumina após a ingestão de altos níveis de proteína. De acordo com SCHALM *et alii* (13), a albumina pode representar uma reserva de aminoácidos disponível para o atendimento das exigências do organismo animal, e STURKIE (16) também se referiu à albumina como fonte ou reserva de aminoácidos em condições de consumo reduzido. SPÖRRI e STÜNZI (15) afirmaram que carências protéicas provocam hipoproteinemia, com diminuição do teor de albumina.

Considerando os teores de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  — globulinas, LEVEILLE e SAUBERLICH (7) determinaram que a relação A/G variava de 1,14 a 1,81 em aves que, até a quarta semana de vida, haviam recebido rações com nível protéico de 10 a 25%. Também neste estudo as relações A/G aumentaram de acordo com o teor protéico das rações, todavia os valores determinados foram menores (0,66 e 0,74).

Relações A/G inferiores a 1, obtidas em vários trabalhos conduzidos com aves, foram registradas por STURKIE (16).

## 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Foram analisadas amostras de soro sanguíneo de machos Hubbard, com 21 ou 56 dias de idade, alimentados, desde o primeiro dia de vida, com rações à base de milho (comum ou opaco-2) e farelo de soja, com 15% de proteína bruta ou com 22% de proteína bruta e suplementação com metionina.

As técnicas empregadas foram a colorimetria, a refratometria, a eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (PAGE-SDS) e o fracionamento em coluna de DEAE-Sephacel, eluída com tampão acetato a 0,025M, pH 5,2 e 4,5.

As seguintes conclusões tornaram-se possíveis, nas condições deste estudo:

foram observadas, em gel de poliacrilamida, pelo menos 13 frações protéicas maiores no soro de aves com 21 dias de idade;

obteve-se indicação, nos eletroferogramas, de que as frações com peso molecular de 56 e 22 kDa, eluídas da coluna de DEAE-Sephacel com tampão, pH 4,5 (fração albumina), mostravam-se diminuídas em aves alimentadas com rações deficientes em proteína;

a dosagem colorimétrica conduziu a valores de proteínas séricas um pouco

superiores aos obtidos por refratometria;

não foi notada diferença entre os níveis de proteínas séricas totais em aves alimentadas com rações com milho comum ou opaco-2 e farelo de soja;

foi observado que os níveis de proteínas séricas totais aumentaram de acordo com a idade das aves;

mais altos níveis de proteínas séricas totais e da fração albumina e maiores valores para a relação A/G (albumina/globulinas) foram observados em aves alimentadas com as rações mais bem supridas de proteínas, que possibilitaram também melhores ganhos de peso.

## 5. SUMMARY

### (INFLUENCE OF THE PROTEIN CONTENT OF RATIONS ON THE SERUM PROTEINS IN BROILER CHICKS)

These experiments were carried out at the Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

Blood samples were obtained by cardiac puncture from Hubbard male broiler chicks reared from 1 to 21 and 1 to 56 days of age on a suboptimal 15% protein diet, or on 22% protein diet supplemented with methionine according to National Academy of Sciences (USA) standards. The diets were based on normal corn or opaque-2 corn and soybean meal.

The samples were analyzed by colorimetry and refractometry for total serum proteins and albumin. An electrophoretic pattern of serum proteins was obtained on polyacrylamide gel with dodecyl-sodium sulphate (PAGE-SDS). Four commercial purified proteins were used to determine molecular weights of some serum proteins in the gel. Some serum samples were applied to a DEAE-Sephadex column eluted with acetate buffer 0.025M, pH 5.2 and 4.5, and two protein fractions were collected.

The data obtained allowed the following conclusions:

At least 13 major protein bands were obtained by gel electrophoresis.

The use of suboptimal protein level diets resulted in a decrease of the protein bands of 56 and 22 kDa, eluted from DEAE-Sephadex column with acetate buffer pH 4.5 (albumin fraction).

Levels of total serum proteins determined by colorimetry were somewhat higher than those obtained by refractometry.

No differences were observed in total serum proteins levels among chicks fed normal corn or opaque-2 corn diets.

Total serum proteins levels were higher in older birds.

The best weight gains, the highest levels of total serum proteins and albumin, and the highest value for the albumin/globulin ratio were achieved with 22% protein diets supplemented with methionine.

## 6. LITERATURA CITADA

1. ALEXIS, S.D.; BASTA, S. & YOUNG, V.R. Dietary protein intake and skeletal muscle protein metabolism in rats. *Biochem. J.* 128(3):521-530. 1972.
2. BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72(1):248-254. 1976.
3. HARRIS JR., G.C. & SWEENEY, M.J. Electrophoretic evaluation of blood sera proteins of adult male chickens. *Poultry Sci.* 48(5):1590-1593. 1969.

4. HESBY, J.H.; CONRAD, J.H.; PLUMLEE, M.P. & HARRINGTON, R.B. Effects of normal corn, normal corn plus lysine and opaque-2 corn on serum protein and reproduction performance of gravid swine. *J. Animal Sci.* 34(6): 974-978. 1972.
5. HOFFENBERG, R. Measurement of the synthesis of liver produced plasma protein with special reference to their regulation by dietary protein and amino acids supply. *Proc. Nutr. Soc.* 31(3):265-271. 1972.
6. KIRSCH, R.E.; FRITH, L.; BLACK, E. & HOFFENBERG, R. Regulation of albumin synthesis and catabolism by alteration of dietary protein. *Nature* 217 (5128):578-579. 1968.
7. LEVEILLE, G.A. & SUABERLICH, H.E. Influence of dietary protein level on serum protein components and cholesterol in the growing chick. *J. Nutrition* 74(4):500-504. 1961.
8. MERTZ, E.T.; BATES, L.S. & NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science* 145(3629):279-280. 1964.
9. MOREIRA, M.A.; HERMODSON, M.A.; LARKINS, B.A. & NIELSEN, N.C. Partial characterization of the acidic and basic polypeptides in glycinin. *J. Biol. Chem.* 254(19):9921-9926. 1979.
10. MORGAN JR., G.W. & GLICK, B. A quantitative study of serum protein in bursectomized and irradiated chicken. *Poultry Sci.* 51(3):771-778. 1972.
11. MUNRO, N.H. Adaptation of mammalian protein metabolism to amino acid supply. *Proc. Nutr. Soc.* 28(2):214-225. 1969.
12. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutritional Requirements of Poultry*. 17<sup>th</sup> ed. Washington, D.C., 1977. 48 p.
13. SCHALM, O.M.; JAIN, N.C. & CARROL, E.J. *Veterinary Hematology*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975. 807 p.
14. SINGH, G. Identification of the chicken serum protein by immunoelectrophoretic methods. *Poultry Sci.* 57(5):1451-1455. 1978.
15. SPÖRRI, H. & STÜNZI, H. *Fisiopatología Veterinaria*. Zaragoza, España, Ed. Acribia, 1976. 714 p.
16. STURKIE, P.D. *Fisiología Aviar*. Zaragoza, España, Editorial Acribia, 1968. 607 p.
17. TAFURI, M.L. *Efeitos do milho opaco-2 sobre produção de ovos e coloração de gemas*. Viçosa, U.F.V., 1970. 42 p. (Tese M.S.).
18. TAFURI, M.L.; FONSECA, J.B.; SILVA, M.A.; ROSTAGNO, H.S. & COSTA, P.M.A. Níveis de proteína, metionina e lisina em ração inicial de frangos de corte: 1. Efeitos sobre o desempenho. *Rev. Ceres* 31(174):94-104. 1984.
19. TORRES-MEDINA, A.; RHODES, M.B. & MUSSMAN, H.C. Chicken serum proteins: A comparison of electrophoretic techniques and localization of transferrin. *Poultry Sci.* 50(4):1115-1121. 1971.

20. WANNERMACHER JR., R.W.; WANNERMACHER, C.F. & YATVIN, M.B. Amino acid regulation of synthesis of ribonucleic acid and protein in rats. *Biochem. J.* 124(2):385-392. 1971.
21. YOKOGOSHI, H. & YOSHIDA, A. Effects of supplementation and depletion of a single amino acid on hepatic polyribosome profile in rats. *J. Nutrition* 110 (7):375-382. 1980.
22. YOKOGOSHI, H.; SAKUNA, Y. & YOSHIDA, A. Effect of dietary protein quality and quantity on hepatic polyribosome in rats. *J. Nutrition* 110(7):1347-1353. 1980.