

## PRESENCIA DE INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO EN LAS SEMILLAS DE GUISANTES (*PISUM SATIVUM* L.)

Por E. Zorita  
R. Sanz Arias  
M. Tovar

### INTRODUCCION

Desde el punto de vista de la nutrición animal, la distinción entre principios tóxicos, inhibidores hormonales o enzimáticos y antivitaminas es frecuentemente muy imprecisa. En general se suelen agrupar bajo la denominación de factores inhibidores del crecimiento puesto que el efecto común de su presencia en las raciones es una disminución del ritmo de crecimiento.

La presencia de sustancias tóxicas en la mayoría de las semillas de leguminosas está bien comprobada (Liener, 1969). En lo que se refiere a las semillas de guisantes (*Pisum sativum* L.) la bibliografía sobre este aspecto es muy escasa y poco concluyente. BORCHERS *et al* (1947) y BORCHERS y ACKERSON (1950) no encontraron inhibidores de la tripsina en estas semillas; ROCA TORRAS (1964) considera que los guisantes carecen de efectos tóxicos y SANZ ARIAS, ZORITA y TOVAR (1971) no pudieron observar efectos tóxicos al administrar a pollos en crecimiento harina de guisantes al nivel del 13 % de la ración. Evidentemente, la inclusión de guisantes a este nivel sin que se presenten efectos tóxicos no es muy significativo si se tiene en cuenta la posibilidad de que el contenido en sustancias inhibidoras del crecimiento puede ser muy pequeño.

Por otra parte, KIENHOLZ *et al* (1960) al administrar a pollos harina de guisantes al nivel del 93,4 % llegaron a la conclusión de que estas semillas contienen inhibidores del crecimiento o factores tóxicos, BELITZ *et al* (1968) encontraron en los guisantes inhibidores de la proteinasa

y RESSLER *et al* (1968) aislaron de estas semillas el mismo principio tóxico de la veza, si bien en cantidad inferior al 0,004 %.

En líneas generales, la metionina es el aminoácido limitante en las semillas de leguminosas (RONDA *et al*, 1963) y los guisantes no hacen excepción a esta regla. SCHNEIDER y MILLER (1954) señalan que su proteína es de alto valor biológico cuando se suplementa adecuadamente con metionina, y otros autores lograron mejorar el ritmo de crecimiento de los animales al suplementar los guisantes con este aminoácido (BOLIN *et al* 1946); RUSSELL *et al* (1946); BORCHERS *et al* (1947); RICHARDSON (1948); ESH y SOM (1952).

Existe la posibilidad de que la admitida deficiencia en metionina se vea complicada por la presencia de factores tóxicos en las semillas de guisantes. No cabe duda de que el efecto conjunto debe ser más notorio que el producido por cada una de estas causas aisladamente. En este trabajo se estudia, en dos pruebas realizadas con pollos en crecimiento, el efecto de la administración de cuatro niveles de guisantes y el efecto de la suplementación con tres niveles de metionina de una ración conteniendo 30 % de guisantes.

#### MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado pollos Leghorn machos, que se han mantenido en baterías de hierro galvanizado, calentadas por medio de lámparas de rayos infrarrojos. En la primera prueba se han utilizado cuatro grupos de veinte pollos y en la segunda cinco grupos del mismo número de animales.

Para la primera prueba se formularon cuatro raciones conteniendo harina de semillas de guisantes a los niveles de 20, 30, 40 y 50 % de la ración. Estos niveles son de tipo más práctico que el empleado por KIENHOL *et al* (1960). Para la formulación de las raciones de las dos pruebas se tuvieron en cuenta los resultados analíticos de las materias primas empleadas, que figuran en un trabajo anterior (SANZ ARIAS, *et al*, 1971). Para los ingredientes que no figuran allí, se han utilizado las cifras de composición normalmente admitidas. Las raciones administradas en la primera prueba figuran en la Tabla I.

TABLA I

Raciones utilizadas en la primera prueba

	A	B	C	D
Guisantes .....	20,0	30,0	40,0	50,0
Maíz .....	44,0	38,0	32,2	26,4
Cebada .....	10,0	10,0	10,0	10,0
Alfalfa deshidratada .....	2,0	2,0	2,0	2,0
Soja, 44 % .....	13,2	9,2	5,1	1,0
Pescado, 60 % .....	8,0	8,0	8,0	8,0
Fosfato bicálcico .....	0,5	0,5	0,4	0,4
Carbonato cálcico .....	1,0	1,0	1,0	0,9
Sal .....	0,3	0,3	0,3	0,3
Corrector vit./min. (*) .....	1,0	1,0	1,0	1,0
Totales .....	100,0	100,0	100,0	100,0
Composición calculada:				
Proteína bruta, % .....	20,52	20,53	20,51	20,50
Fibra bruta, % .....	3,95	4,06	4,30	4,52
Calcio, % .....	1,04	1,04	1,03	1,03
Fósforo, % .....	0,67	0,67	0,67	0,68
Lisina, % .....	1,19	1,20	1,22	1,22
Arginina, % .....	1,34	1,39	1,44	1,50
Metionina + Cistina % .....	0,69	0,65	0,63	0,60
Triptófano, % .....	0,23	0,22	0,21	0,21

(\*) El corrector vitamínico-mineral utilizado, aportaba las siguientes cantidades por Kg. de pienso: Vitamina A, 6.000 U.I.; Vit. D-3, 1.500 U.I.; Vit. K, 2 mg.; Vit. B-1, 2 mg.; Vit. B-2, 4 mg.; Vitamina B-6, 2 mg.; Vit. B-12, 0,008 mg.; ácido pantoténico, 14 mg. ácido nicotínico, 27 mg.; colina, 1.000 mg.; manganeso 60 mg.; Cinc, 40 mg.; Iodo 1 mg.; hierro, 15 mg.; cobre, 2 mg.

Como puede observarse en la Tabla I, la inclusión de la harina de guisantes se ha realizado en sustitución de las cantidades necesarias de harinas de soja y maíz, manteniendo lo más semejante posible el total de proteína de las cuatro raciones. Los restantes ingredientes se han mantenido constantes, salvo las ligeras variaciones introducidas en los suplementos de calcio y fósforo, en las raciones C y D, para equilibrar los contenidos en estos elementos. Por el espíritu de esta prueba no se prestó atención a cubrir las necesidades de los pollos en los aminoácidos metionina + cistina, que son los únicos que resultan deficientes en las cuatro raciones (ver las recomendaciones que figuran en la Tabla II).



En la segunda prueba se han utilizado las raciones que figuran en la Tabla II.

TABLA II

*Raciones utilizadas en la segunda prueba*

	Testigo	Problemas
Guisantes .....	—	30,0
Soja, 44 % .....	12,0	—
Maíz .....	51,2	33,2
Cebada .....	19,0	19,0
Alfalfa deshidratada .....	2,0	2,0
Pescado, 60 % .....	14,0	14,0
Carbonato Cálcico .....	0,6	0,6
Sal .....	0,2	0,2
Corrector vitamínico (*) .....	1,0	1,0
Totales .....	100,0	100,0

Composición calculada:

Proteína bruta, % .....	20,51	20,54	Recomendaciones del NRC (1960)
Fibra bruta, % .....	3,30	4,00	
Calcio, % .....	1,02	1,04	
Fósforo, % .....	0,71	0,73	
Arginina, % .....	1,28	1,35	1,20
Lisina, % .....	1,27	1,51	1,00
Metionina + Cistina % .....	0,79	0,70	0,80
Triptófano % .....	0,23	0,20	0,20

(\*) El mismo que figura en la Tabla I.

Al formular la ración Testigo que figura en la Tabla II, se pretendió cubrir las Recomendaciones del National Research Council (1960), siendo necesario incorporar harina de pescado al nivel del 14 por 100 para alcanzar el nivel del 0,8 % de metionina + cistina. A pesar de ello, la suma de ambos aminoácidos resultó ligeramente inferior al nivel recomendado. Al igual que en las raciones de la prueba anterior los otros aminoácidos considerados cubren las recomendaciones. Como era de esperar la ración problema es deficiente en la suma de metionina + cistina. Para el cálculo de los contenidos en aminoácidos de las materias primas utilizadas se ha tomado la media aritmética de las cifras consignadas en

las tablas de TITUS (1955), SEIDEN y PFANDER (1957). MORRISON (1959) ABRAMS (1961) y EWING (1963).

En la ración problema, los guisantes se han incluido al nivel del 30 % en sustitución de toda la harina de soja y parte de la harina de maíz. Los restantes ingredientes se han incluido al mismo nivel en las dos raciones.

En esta segunda prueba se han utilizado 5 grupos de pollos. Dos de ellos han consumido las raciones tal como se indican en la Tabla II, y los tres restantes, la ración problema suplementada con DI-metionina a tres niveles distintos. Como puede observarse en la Tabla II la diferencia en los contenidos de metionina + cistina entre las dos raciones es de 90 gr. por 100 Kg. Así pues, el tercer grupo de pollos recibió la ración problema suplementada con 90 gr. de metionina al objeto de igualar el contenido de las dos raciones y los grupos cuarto y quinto recibieron el doble y el triple de esta cantidad, por si pudiera mejorarse la ración con cantidades superiores a la teóricamente necesaria.

Se realizaron pesadas individuales de los pollos a intervalos semanales y se dieron por terminadas las pruebas a los 28 días.

Los estudios estadísticos se realizaron siguiendo a SNEDECOR (1948)

#### RESULTADOS EXPERIMENTALES

*Primera prueba:* Los resultados obtenidos en los distintos registros de peso figuran en la Tabla III.

A los 28 días de edad los pesos medios de los pollos de cada uno de los cuatro grupos fueron  $216,0 \pm 6,9$  g.;  $116,2 \pm 5,0$  g.;  $101,2 \pm 5,3$  g.; y  $78,1 \pm 3,3$  g. Realizando un análisis de la varianza a partir de los pesos finales resultó que existen diferencias altamente significativas entre los pesos de los animales de los cuatro grupos ( $p < 0,005$ ), a excepción de la diferencia entre los pesos de los grupos B y C que solamente es significativa ( $p < 0,05$ ). Durante el transcurso de esta prueba sólo se produjeron dos bajas en el grupo que consumió la ración con 40 % de harina de guisantes.

*Segunda prueba:* Los resultados obtenidos en los distintos registros de peso realizados figuran en la Tabla IV.

TABLA III

Resultados obtenidos en la primera prueba

Días	Peso medio por pollo, g				Indice de transformación			
	A	B	C	D (*)	A	B	C	D
0	36,6	36,5	36,5	36,6	—	—	—	—
7	68,4	59,0	54,8	51,5	0,95	1,01	0,99	1,05
14	112,2	80,9	71,8	57,5	1,39	1,68	1,58	1,74
21	160,4	97,0	84,6	68,3	1,76	2,11	2,10	2,35
28	216,0	116,2	101,2	78,1	1,86	2,52	2,53	3,06

(\*) Grupo A = 20 % de guisantes; B = 30 % de guisantes; C = 40 % de guisantes; D = 50 % de guisantes.

TABLA IV

Resultados obtenidos en la segunda prueba

Días	Peso medio por pollo, g.					Indice de transformación				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
0	34,8	34,4	34,0	35,0	34,1	—	—	—	—	—
7	65,7	54,3	58,2	62,0	56,7	0,89	0,85	0,95	0,91	0,91
14	113,6	84,8	92,6	91,5	87,0	1,38	1,53	1,55	1,52	1,40
21	172,5	124,1	138,7	141,8	134,3	1,69	1,97	1,90	1,82	1,81
28	219,2	182,2	204,7	208,2	197,7	1,70	1,80	1,79	1,76	1,89

Grupo A: Ración testigo; B = Ración problema; C = Ración problema + 90 g. de metionina DL para 100 Kg.; D = Ración problema + 180 g. de DL metionina para 100 Kg.; E = Ración problema + 270 g DL metionina para 100 kilogramos.

A los 28 días de edad, los pesos medios de los pollos de cada uno de los cinco grupos fueron: 249,2  $\pm$  4,8 g; 182,2  $\pm$  5,6 g.; 204  $\pm$  6,4 g.; 197,7  $\pm$  8,5 g.; 208,2  $\pm$  6,8 g.

A partir de las cifras obtenidas en el registro final de peso se llevó a cabo un análisis de la varianza que arrojó los resultados siguientes: entre el grupo A y todos los demás la diferencia es altamente significativa ( $p < 0,005$ ), entre el grupo B y los grupos C, D y E, la diferencia es significativa ( $p < 0,05$ ) y entre los grupos C, D y E no existen diferencias significativas.

Durante el transcurso de la prueba no hubo bajas.

## DISCUSION

*Primera prueba.*—El peso alcanzado a los 28 días por los pollos que consumieron la ración conteniendo 20 % de guisantes resultó inferior al considerado normal para este tipo de animales. En esta primera prueba no se dispuso de grupo testigo, pero los resultados pueden compararse con los correspondientes al grupo testigo de la segunda prueba (grupo A, tabla IV). Evidentemente, las cifras no son estrictamente comparables por tratarse de dos pruebas no simultáneas y en las que se utilizaron raciones muy diferentes. No obstante, los animales fueron de un mismo origen y las condiciones ambientales y de manejo prácticamente iguales, siendo el peso alcanzado por los pollos del grupo testigo el normal para la edad de 28 días. Si admitimos, pues, como punto de comparación el peso de 249,2 g., la diferencia existente con respecto al peso de los animales que consumieron la ración conteniendo el 20 % de guisantes no resulta excesivamente acusada y podría relacionarse con el menor contenido en metionina + cistina de la ración.

No ocurre lo mismo con los pesos de los pollos que consumieron las raciones conteniendo 30, 40 y 50 % de guisantes. Las diferencias se hacen progresivamente más acusadas y para el nivel más elevado, el peso de los animales es casi tres veces menor que el que estamos considerando como patrón. Estas diferencias de peso tan notables parecen apuntar a otras causas diferentes de meros desequilibrios nutritivos. Para poder explicarlas sin hacer intervenir a algún factor tóxico o inhibidor del crecimiento, hubiera sido necesario que las raciones fueran extremadamente desequilibradas en su composición en aminoácidos o que presentaran una marcada deficiencia en algún nutriente esencial. Como puede comprobarse en la Tabla I, no parece ser este el caso y ha de pensarse en la presencia de sustancias tóxicas o inhibidoras del crecimiento en las semillas de guisantes.

Asimismo puede apreciarse que los pesos de los pollos de los grupos B, C y D (30, 40 y 50 % de guisantes) son progresivamente menores, guardando una cierta relación con los incrementos del porcentaje de harina de guisantes. Parecería como si la dosis tóxica efectiva se localizase a un nivel que no se alcanza con el 20 %.

Los resultados de KIENHOLZ *et al* (1962) son claramente distintos a los obtenidos en esta prueba. Estos autores, administraron tres variedades de guisantes al nivel del 93,4 % a pollos de New Hampshire, que alcanzaron pesos, a las tres semanas de 148, 136 y 170 g. siendo el peso de los animales testigo 210 g. Considerando como 100 esta última cifra, los pesos alcanzados por los pollos que consumieron las raciones con guisantes representan el 70, 64 y 80 % respectivamente. En nuestro trabajo, considerando como 100 el peso alcanzado a las tres semanas por los po-



llos del grupo testigo de la segunda prueba, los pesos conseguidos a la misma edad por los animales que consumieron las raciones conteniendo 20, 30, 40 y 50 % de guisantes representaron el 93, 56, 49 y 39 % respectivamente. Si se tiene en cuenta que los autores citados administraron los guisantes prácticamente como alimento único, en tanto que en esta prueba se han utilizado mezclas complejas que, sin duda, deben ser más apetecibles y estar más equilibradas en su composición en aminoácidos, puede llegarse a la conclusión de que las semillas utilizadas por nosotros son considerablemente más tóxicas que las empleadas en aquella prueba.

RESSLER *et al* (1969) aislaron e identificaron el principio tóxico de la veza como la  $\beta$ -ciano-alanina, que se presenta en estado libre o ligada en forma de  $\gamma$ -glutamyl- $\beta$  cianoalanina. En la muestra de semillas de guisantes que analizaron, no encontraron  $\beta$ -cianoalanina en estado libre y detectaron una cantidad inferior al 0,004 % de  $\beta$  cianoalanina ligada. Si se utiliza esta cifra para calcular el contenido en dicha sustancia en las raciones utilizadas en nuestro trabajo, se obtienen cifras que varían entre 0,0008 y 0,0020 % para las raciones con 20 y 50 % de guisantes respectivamente. Estos niveles están muy por debajo de los que RESSLER *et al* (1969) consideraron como tóxicos para los pollos (0,08-0,211 %) y no pueden considerarse responsables de las grandes diferencias de peso observadas en nuestro trabajo. Nuevamente hemos de insistir en que los contenidos en sustancias tóxicas de las semillas empleadas por nosotros parecen ser notablemente superiores a las utilizadas por estos autores. Asimismo pudiera ocurrir que la sustancia responsable no sea exclusivamente la encontrada en las semillas de veza, sino que vaya acompañada de otra u otras, todavía desconocidas, que actúan conjuntamente.

*Segunda prueba.*—Partiendo de la base, proporcionada por la prueba anterior, de la presencia de sustancias inhibitoras del crecimiento en los guisantes, pareció interesante estudiar hasta qué punto dichas sustancias son responsables del menor crecimiento de los pollos.

En la primera prueba no se prestó atención a cubrir las necesidades de los pollos en los aminoácidos metionina + cistina. Las raciones resultaron deficientes y no cabe duda de que esta deficiencia debe haber jugado cierto papel en el crecimiento de los animales. De hecho, el crecimiento de los pollos se habrá visto limitado, por una parte, por la presencia de sustancias tóxicas y por otra, por la deficiencia en metionina + cistina. Teóricamente, igualando los contenidos en la suma de estos aminoácidos en las raciones testigos y problema, el crecimiento de los pollos no se vería limitado por esta causa y podrían apreciarse los efectos de las sustancias tóxicas actuando de forma independiente.

En la elección del nivel del 30 % de guisantes para esta segunda prueba se han tenido en cuenta diversos factores: a) la mayor diferencia de

peso se ha producido al pasar del nivel del 20 al 30 % de guisantes; b) la diferencia de peso entre los pollos de los grupos que han consumido las raciones con 30 y 40 % de guisantes aun siendo significativas, no ha sido excesivamente elevada; c) si se hubiera elegido la ración con 50 % de guisantes la suplementación con metionina hubiera debido ser muy elevada y, según GREENBERG (1951) la ingestión excesiva de aminoácidos libres hace que los animales se sientan enfermos produciéndose un efecto similar al de la deficiencia en la ración de un aminoácido indispensable.

Según se indicó, la diferencia entre las raciones testigo y problema fue de 90 g. de metionina/100 Kg. de pienso. La ración problema fue suplementada con esta cantidad de DL metionina y se mantuvieron otros dos grupos de pollos que recibieron la misma ración suplementada con el doble y el triple de esta cantidad.

Comparando las cifras correspondientes a los grupos B de las dos pruebas (Tablas III y IV) que recibieron guisantes al mismo nivel del 30 %, sin suplementación con metionina, puede observarse como el crecimiento de los pollos ha mejorado sensiblemente al aumentar la cantidad de harina de pescado (y por consiguiente el contenido en metionina + cistina) lo que supone más calidad en la ración considerada como un todo. La adición de metionina en cantidad suficiente para igualar las raciones testigo y problema en metionina + cistina (90 gr./100 Kg) ha producido un incremento de peso que, no obstante, ha quedado sustancialmente por debajo del conseguido por los pollos que consumieron la ración testigo. Los niveles superiores de metionina no dan lugar a incrementos de peso e incluso llegan a disminuirlo, como sucede en el caso de la ración con 270 g. por 100 Kg. de DL metionina. Este último efecto ya ha sido observado en otras ocasiones (GREENBERG, 1951; OCIO, 1961; SANZ ARIAS, 1962) y sería debido a un desequilibrio provocado por la excesiva suplementación. En cualquier caso, es evidente que la suplementación de los guisantes con metionina sintética mejora el valor nutritivo de estas semillas lo cual está de acuerdo con los resultados logrados por otros autores (BOLIN *et al*, 1946; RUSSEL *et al*, 1947; RICHARDSON, 1948; ESH y SON 1952; SCHNEIDER y MILLER, 1954).

El hecho de que la suplementación con metionina a los niveles estudiados no haya permitido a los pollos igualar el peso de los animales del grupo testigo, sugiere de nuevo la existencia de factores tóxicos o inhibidores del crecimiento en las semillas de guisantes.

## RESUMEN

Ochenta machitos de un día de raza Leghorn, divididos en cuatro grupos, recibieron raciones conteniendo distintos niveles (20, 30, 40 y 50 %)



de harina de guisantes (*Pisum sativum*, L) hasta los veintiocho días de vida. A medida que el porcentaje de guisantes se incrementa en la ración, se observa una reducción progresiva en el crecimiento de los pollos. Estos resultados se discuten a la vista de los logrados por otros autores, considerándose que el crecimiento se ha visto frenado, por una parte, por la deficiencia de estas semillas en metionina y, por otra, por la presencia de sustancias tóxicas o factores inhibidores del crecimiento.

Para aclarar la cuestión se realizó una segunda prueba con 100 pollitos divididos en cinco grupos y en la cual una ración con el 30 % de harina de guisantes se suplementó con dl-metionina a los niveles de 90, 180 y 270 gr/100 Kg. de pienso y comparada con una ración testigo formulada para cubrir las necesidades en aminoácidos de los pollos en crecimiento. La suplementación al nivel de 90 gr/100 Kgs. de pienso mejora el crecimiento, aun cuando los animales no llegaron a alcanzar el peso de los que recibieron la ración testigo. Los niveles superiores de suplementación no dieron lugar a mejores resultados. Por ello se considera probable la presencia de sustancias tóxicas o factores inhibidores del crecimiento para las aves.

#### RESUME

Quatre-vingts poussins mâles d'un jour, de race Leghorn, distribués en quatre groupes, ont reçu des rations qui contenaient de la farine de pois (*Pisum sativum*, L) à des niveaux différents (20 %, 30 %, 40 % et 50 %) jusqu' à l'âge de 28 jours. A mesure que le pourcentage de pois augmente dans la ration, on remarque une diminution progressive dans la croissance des poussins. On discute ces résultats en les comparant avec ceux obtenus par d'autres auteurs, et l'on constate que la croissance a été freinée d'une part par le manque de méthionine dans ces graines et, d'autre part, par la présence de substances toxiques ou de facteurs inhibiteurs de la croissance.

Pour éclaircir cette question on effectua un second essai avec 100 poussins distribués en cinq groupes. Dans ce second essai, une ration qui contenait un 30 % de farine de pois fut supplémentée avec de la dl-méthionine aux niveaux de 90, 180 et 270 gs par 100 Kgs. d'aliment et comparée avec une ration témoin formulée pour couvrir les nécessités en amino-acides des poussins en croissance. La supplémentation au niveau de 90 gs, 100 Kgs. d'aliment améliora la croissance malgré que les poussins n'atteignirent pas le poids de ceux qui avaient reçu la ration témoin. Avec les niveaux de supplémentation supérieurs on n'obtint pas de meilleurs résultats. Par conséquent, on considère probable la présence de substances toxiques ou de facteurs inhibiteurs de la croissance des poussins.

#### SUMMARY

Rations containing four levels (20, 30, 40 and 50 percent) of peas meal (*Pisum sativum*, L) were fed to 80 day-old male Leghorn chickens divided into four groups, until they were four weeks old. The growth rate of the chickens was markedly decreased as the level of the peas meal was increased in the ration. This reduction in the growth rate may have been due to a deficiency in methionine or to the presence in the peas meal of toxic substances that may have caused an inhibition of growth.

In order to gain further knowledge in the subject a second trial was carried out using 100 chickens divided into five groups, in which a ration containing 30 percent of peas meal was supplemented with dl-methionine at levels of 70, 180 and 270 gr. per 100 Kgs. of feed, was compared with a control ration containing adequate amounts of amino acids for growing chickens. The ration containing 90 gr. of methionine per 100 kgs. of feed improved the growth but the animals did not reach the final weight of those fed the control ration. Increasing the levels of methionine did not improve the performance of the chickens. The results of this work would indicate that the peas meal may have some toxic factor (s) that inhibit growth when fed to chickens.

#### BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, J. T. (1961).—*Animal Nutrition and Veterinary dietetics*. 4.<sup>a</sup> Ed. W. Green and Son. Ltd. Publishers. Edimburg.
- BELITH, H. D., WASSNER, H. P. y WEDER, J. (1969).—*Nut Abst. and Reviews*, vol. 39, n.º 1, 36.
- BOLIN, D. W., PETERSEN, C. F., LAMPMAN, C. E. y STAMBERG, D. E. (1946). *Chem. Abst.* vol. 40 3512.
- BORCHERS, R. y ACKERSON, C. W. (1950).—*Chem. Abst.* vol. 44, 8016-8017.
- BORCHERS, R., ACKERSON, C. W. y KIMMET, L. (1947).—*Chem. Abst.* vol. 41, 6292.
- ESH, G. G. y SOM, J. M. (1952).—*Chem. Abst.* vol. 46, 10332.
- EWING, W. R. (1963).—*Poultry Nutrition*. The Ray Ewing Company, Publisher. Pasadena, California.
- GREENBERG, D. M. (1951).—*Amino Acid and Proteins*. Primed Ed. CHARLES, C., THOMAS PUBLISHER, Spring Field-Illinois, U.S.A.
- KIENHOLZ, E. W., JENSEN, L. S. y MCGINNIS J. (1962).—*Poultry Sci.* vol. 41, 367-371.
- LIENER, I. E. (Editor) (1969).—*Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press, New York and Londres.
- MORRISON, F. B. (1959).—*Feeds and Feeding* 22 Ed. The Morrison Publishing Co. Clinton, Iowa.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1962).—*Nutrient Requirements of Poultry*. Publication 827. National Academy of Sciences. Washington. D.C.
- OCIO, E. (1963-64).—*Revista de Nutrición Animal*. Vol. I, 90-102 y vol. II, 53-63.
- RESSLER, C., NIGAM, S. N. y GIZA, Y. M. (1969).—*Journal of the American Society*, 91-110, 2758-2765.

- RICHARDSON, L. R. (1948).—*J. Nutrition*, 36, 451-462.
- ROCA TORRAS J. (1964).—*Cuadernos de Nutrición Animal*, n.º 15, 11-24.
- RONDA LAIN, E. MORALES, J. F. y OTERO, J. (1963). *Revista de Nutrición Animal*, Vol. I, n.º 1, 24-32.
- RUSSEL, W. C. TAYLOR M. W., MEHRHOF, J. G. y HIRSCH, R. R. (1947).—*Chem. Abst.* vol. 41, 2468.
- SANZ ARIAS, R. (1961).—*Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, vol. VII, n.º 7, 89-145.
- SANZ ARIAS, R., ZORITA, E. y TOVAR, M. (1971).—*Anales de la Facultad de Veterinaria de León*. Año XVII.
- SCHNEIDER, B. M. y MILLER, D. F. (1954).—*Chem. Abst.* Vol. 48, 8442.
- SEIDEN, R. y PFANDER, W. N. (1957).—*The handbook of feedstuffs*. Springer Publishing Co. New York.
- SNEDECOR, G. W. (1948).—*Métodos de estadística*. Traducido de la 4.ª Ed. inglesa. Acme Agency. Soc. Resp. Ltd. Buenos Aires.
- TITUS, H. W. (1955).—*The Scientific Feeding of Chickens Rev.* 2.ª Ed. The Interstate, Danville, Illinois.