



NUTRIÇÃO *IN OVO* PARA FRANGOS DE CORTE

In ovo nutrition for broiler chickens

Daniella Rabelo Barbosa¹
Sávio Tadeu Almeida Júnior²

Resumo: A técnica *in ovo* foi iniciada nos anos 90 nos Estados Unidos para a realização da vacinação automática de pintinhos de frangos de corte contra as doenças de Marek e Gumboro. Desde então, tem sido amplamente utilizada na indústria avícola. Essa técnica permite a entrega de diversas substâncias para o embrião. Dentre as principais estão os antibióticos, pré e pró-bióticos, simbióticos, hormônios e nutrientes como as vitaminas, minerais, carboidratos e aminoácidos. A entrega de nutrientes *in ovo* pode auxiliar tanto no desenvolvimento embrionário e momento de eclosão, como também influenciar o desenvolvimento pós-eclosão das aves, visto que uma das limitações para esses eventos é o próprio conteúdo nutricional do ovo. Assim, a nutrição *in ovo* se apresenta como uma tecnologia promissora para obtenção de melhores resultados na eclodibilidade, *status* imunológico, desempenho zootécnico, desenvolvimento ósseo, além de promoção de efeitos positivos na morfologia intestinal e na antioxidação. Contudo, há variações na execução do procedimento, como volume e dosagens aplicados, tipo de nutriente usado, tipo de diluente de solução utilizado, local de inoculação, idade do embrião no momento da inoculação, entre outros fatores. Em vista disso, a presente revisão de literatura teve por objetivo fornecer informações referentes à nutrição *in ovo* para frangos de corte, enfatizando sua metodologia, benefícios e aplicabilidade a nível industrial. Ainda, visou-se promover uma melhor compreensão sobre essa técnica para que mais estudos possam ser realizados visando o refinamento da mesma e o alcance da sua consolidação na avicultura industrial.

Palavras-chave: Aves. Desempenho. Eclodibilidade.

Abstract: The *in ovo* technique was initiated in the 1990s in the United States to perform automatic vaccination of broiler chicks against Marek and Gumboro diseases. Since then, it has been widely used in the poultry industry. This technique allows the delivery of several substances to the embryo. Among the main ones are antibiotics, pre- and pro-biotics, symbiotics, hormones, and nutrients such as vitamins, minerals, carbohydrates, and amino acids. *In ovo* nutrient delivery can assist both embryonic development and hatching time, as well as influence post-hatch development of the birds, since one of the limitations for these events is the nutritional content of the egg itself. Thus, *in ovo* nutrition presents itself as a promising technology to obtain better results in hatchability, immune status, zootechnical performance, bone development, besides promoting positive effects on intestinal morphology and antioxidation. However, there are variations in the execution of the procedure, such as volume and dosages applied, type of nutrient used, type of solution diluent used, inoculation

site, age of the embryo at the time of inoculation, among other factors. In view of this, the present literature review aimed to provide information regarding in ovo nutrition for broilers, emphasizing its methodology, benefits, and applicability at the industrial level. Furthermore, it aimed to promote a better understanding of this technique so that further studies can be conducted to refine it and achieve its consolidation in industrial poultry production.

Keywords: Poultry. Performance. Hatchability.

1. Introdução

Uma das limitações para o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão das aves é o conteúdo nutricional do ovo (NEVES et al., 2017). Embora a composição do ovo fértil não seja constante entre os ovos, pois depende do tamanho do ovo e da linhagem genética das aves, o albúmen é composto aproximadamente por 88% de água, 12% de proteína e 0,5% de carboidratos, e a gema por 50% de água, 33% de gordura, 15% de proteína e 1% de carboidratos. Em relação às vitaminas, a nutrição materna é a única fonte desse nutriente para o ovo, sendo de extrema importância a qualidade das vitaminas utilizadas na alimentação das matrizes (SAEED et al., 2019).

Durante o estágio final da incubação, há grande demanda de energia para o rápido desenvolvimento dos órgãos embrionários. Esse desenvolvimento pode vir a ser comprometido devido à ocorrência de algum desequilíbrio fisiológico e metabólico (RETES et al., 2018). Além disso, o acesso à alimentação após a eclosão geralmente é atrasado de 24 a 48 horas, sendo a gema residual a principal fonte de nutrientes durante esse período (NOURI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2015).

A tecnologia da nutrição *in ovo* seria uma alternativa para suprir a necessidade de nutrientes pelo embrião, enriquecendo o conteúdo nutricional do ovo e diminuindo a necessidade de suplementação das dietas maternas (SELIM et al., 2012). Essa tecnologia consiste em inocular nutrientes diretamente no ovo embrionado durante o período de incubação. O procedimento pode ser manual ou automático e em diferentes locais de aplicação (SAEED et al., 2019).

A técnica *in ovo* foi iniciada nos anos 90 nos Estados Unidos para vacinar automaticamente os pintinhos contra as doenças de Marek e Gumboro e, desde então, tem sido amplamente utilizada na indústria avícola. Contudo, há variações na técnica de acordo com o local de inoculação, idade do embrião no momento da inoculação, solução da injeção, método de inoculação, entre outros fatores (SAEED et al., 2019). Nesse sentido, objetivo do presente trabalho foi apresentar, por meio de uma revisão de literatura, as informações a cerca da técnica da nutrição *in ovo* para frangos de corte, abordando sua metodologia, benefícios e

aplicabilidade para a avicultura industrial.

2. Revisão de literatura

2.1 Desenvolvimento embrionário

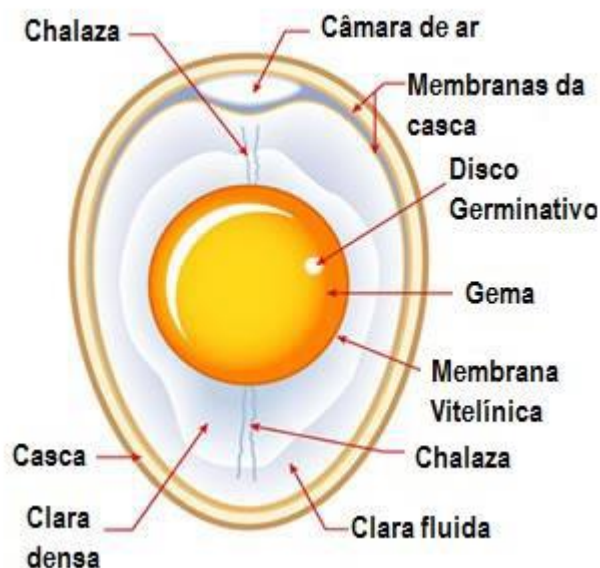
De modo diferente ao que ocorre aos mamíferos, o desenvolvimento embrionário das aves sucede-se externamente ao corpo materno, propriamente, dentro de um ovo. Esse ovo apresenta estrutura e componentes (Figura 1) que devem ser capazes de garantir sua integridade estrutural e, principalmente, todo o suprimento nutricional ao embrião (VIEIRA, 2007). Nesse sentido, a quantidade bem como a qualidade de nutrientes do ovo influem diretamente no desenvolvimento do embrião (GONÇALVES, 2013).

A primeira proteção física do ovo é a casca, evitando contaminações, além de agressões externas ao embrião (NARUSHIN; ROMANOV, 2002). Ela também permite as trocas de água e de gases entre o ovo e o ambiente (NYS; GUYOT, 2011). Em sua superfície externa, a casca é revestida pela cutícula que atribui uma defesa microbiana e resistência à água ao ovo, impedindo perdas hídricas excessivas (PEEBLES; BRAKE, 1986; NYS; GUYOT, 2011). Internamente, existem duas membranas semipermeáveis que também desempenham a ação de uma barreira física à invasão de patógenos (KULSHRESHTHA et al., 2022). Os minerais presentes na casca, de maneira especial o cálcio na forma de carbonato de cálcio, são transferidos ao embrião para dar suporte ao seu crescimento (RIVERA et al., 1999; CARVALHO; FERNANDES, 2012).

O albúmen representa uma das maiores fontes de nutrientes para o embrião, sendo composto por aproximadamente 88% de água, 12% de proteínas e 0,5% de carboidratos (SAEED et al., 2019). Ele está localizado abaixo das membranas da casca e é constituído por camadas, dentre as quais a camada chalazífera é a encarregada pela ancoragem da gema no centro do ovo (DAVIS; REEVES, 2002).

Já a gema, se caracteriza com uma fonte de energia primária sobre a qual o blastodisco ou blastoderme se desenvolve (VIEIRA; MORAN, 1999; KLEIN et al., 2002). A sua composição corresponde por cerca de 50% de água, 33% de lipídeos, 15% de proteínas e 0,5% de carboidratos (SAEED et al., 2019). Além disso, o saco da gema pode ser uma fonte importante de imunidade passiva para o embrião, visto que imunoglobulinas acumulam-se na gema no decorrer da ovogênese (VIEIRA; MORAN, 1999).

Figura 1 – Componentes do ovo de ave



Fonte: Melo et al. (2015).

O desenvolvimento do embrião inicia-se no infundíbulo da galinha com a fertilização do óvulo e tem sua continuidade com o processo de incubação do ovo (MORAN JÚNIOR, 2007). A partir do endoderma e do ectoderma são originadas estruturas essenciais para as funções vitais do embrião (respiração, circulação, nutrição e digestão) e que propiciam a sobrevivência do mesmo durante a incubação. Essas estruturas são denominadas de anexos embrionários e compõem-se pelo âmnio, saco vitelínico, alantoide e córion (Figura 2) (GIVISIEZ et al., 2020; GADELHA et al., 2021).

O âmnio é a estrutura que envolve o embrião durante o seu desenvolvimento. Interiormente, ela está repleta de um líquido chamado de líquido amniótico, cuja função é impedir a desidratação e a aderência do embrião às demais membranas, além de proteção contra choques mecânicos (GIVISIEZ et al., 2020). Por volta do 13º dia de incubação, ocorre a ingestão do fluido amniótico, sendo esse processo substancial para a estimulação do desenvolvimento da mucosa intestinal e preparo da ave para eclosão (GONÇALVES, 2013; SAEED et al., 2019; GIVISIEZ et al., 2020).

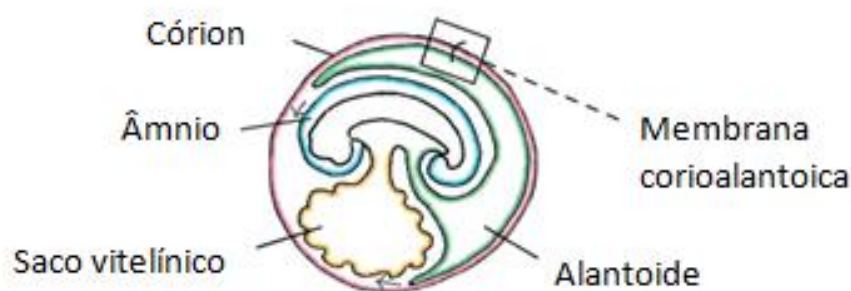
Dentre as primeiras membranas extra-embrionárias a serem formadas, está o saco vitelínico (GADELHA et al., 2021). Esse anexo é crucial para a nutrição do embrião durante seu desenvolvimento, pois opera como órgão digestivo e absorptivo. O saco vitelínico também é um local de armazenamento de glicogênio e órgão excretor temporário. Além do mais, ele atua na síntese de proteínas plasmáticas, produção de células sanguíneas e na transferência de anticorpos maternos para o embrião (FREEMAN; VINCE, 1974; GIVISIEZ et al., 2020). A

partir dos 19 dias de incubação, o saco vitelínico é internalizado na cavidade abdominal da ave (GONÇALVES et al., 2013; GIVISIEZ et al., 2020).

O alantoide configura-se em um local de armazenamento de todas as substâncias excretadas pelo embrião (GADELHA et al., 2021). No 13º dia de incubação, o fluido no interior do alantoide atinge seu volume extremo. Contudo, até o 19º dia, esse conteúdo reduz de maneira considerável, diminuindo a fração de fluido livre dentro do ovo. Esse processo é imprescindível para permitir a respiração e a eclosão do pintinho (FREEMAN; VINCE, 1974).

O córion é o anexo embrionário que envolve e protege todos os demais (GIVISIEZ et al., 2020). A união da membrana do alantoide com a do córion dá origem à membrana corioalantoica, a qual é altamente vascularizada, sendo responsável pelo transporte do cálcio da casca do ovo para o embrião. Ademais, ela atua nas trocas gasosas, reabsorção de água e eletrólitos do fluido alantóico e no equilíbrio ácido-base (GABRIELLI; ACCILI, 2010). Próximo ao período da eclosão, a ave efetua a bicagem interna para a emergência do ovo, o que ocasiona a ruptura da membrana corioalantoica e a consequente interrupção do suprimento imediato de oxigênio. Dessa forma, torna-se necessária a transição para a respiração pulmonar (MORAN JÚNIOR, 2007).

Figura 2 – Anexos embrionários



Fonte: Adaptado de Gabrielli e Accili (2010).

2.2 Fatores do processo de incubação que influenciam no desenvolvimento embrionário

As condições de incubação possuem influência na eclodibilidade dos ovos, como também na qualidade e no desempenho de crescimento do pintinho após a eclosão. Os princípios básicos da incubação, determinantes para o sucesso do desenvolvimento embrionário, como temperatura, umidade, ventilação e viragem dos ovos, foram estabelecidos séculos atrás. Contudo, ao longo dos anos, o processo de incubação artificial foi se

desenvolvendo de forma científica e tecnológica, possibilitando um grande aprimoramento do gerenciamento das variáveis físicas acerca dessa técnica (BOLELI et al., 2016).

A temperatura de incubação se consagra como um dos mais críticos fatores físicos para o desenvolvimento embrionário (HULET, 2007). Através da manipulação da temperatura pode-se promover, retardar ou manter o desenvolvimento embrionário da ave, além de se estimar a sua taxa e duração (BOLELI et al., 2016). Os ovos férteis a serem incubados são expostos a diferentes temperaturas ao longo dos processos de estocagem e incubação. Após a postura, os ovos são armazenados em baixa temperatura a fim de se retardar o desenvolvimento embrionário. Previamente a incubação, os ovos são submetidos ao aquecimento para reativar o desenvolvimento embrionário. Entretanto, durante a incubação, a temperatura deve ser mantida em torno de 37,5°C para manter a temperatura do embrião e dar continuidade à proliferação celular (MUELLER et al., 2015; BOLELI et al., 2016).

A ocorrência de variações na temperatura de incubação fora da ideal, mesmo que pequenas, podem afetar de forma significativa o desenvolvimento embrionário (IPEK et al., 2014). Embriões submetidos a uma elevada temperatura (40,6°C) durante a incubação apresentaram baixo crescimento e menor consumo de gema, o que resultou em uma significativa redução do peso do pintinho à eclosão. Além disso, a aplicação de uma temperatura acima da considerada ótima ocasiona uma maior mortalidade embrionária (WILLEMSEN et al., 2010). Por outro lado, baixas temperaturas retardam ou até mesmo impossibilitam o desenvolvimento embrionário (WILLEMSEN et al., 2010; BOLELI et al., 2016).

Outro fator de grande importância é a umidade relativa do ar dentro da incubadora, pois intervém diretamente no desenvolvimento embrionário, influenciando a produção de calor metabólico e o peso à eclosão. Ainda, auxilia na flexibilidade da casca e na inflação dos pulmões por favorecer a formação adequada da câmara de ar, estrutura essencial para transição para a respiração pulmonar da ave (LAUVERS; FERREIRA, 2011; BARBOSA et al., 2013).

Os poros presentes na casca permitem a troca de gases respiratórios e a evaporação da água contida no ovo para o ambiente, essa capacidade da casca em permitir tais processos é denominada de condutância. Ao decorrer da incubação, o ovo deve perder água para o ambiente, com reduções de peso previstas de 12% até os 18 dias de incubação (TULLETT et al. 1990; BARBOSA et al., 2013). De acordo com Freeman e Vince (1974), umidades relativas entre 40% e 60% estão relacionadas com uma máxima eclodibilidade. Todavia, ovos incubados sob baixa umidade podem perder grande quantidade de água em função do alto

gradiente de pressão de vapor entre o interior do ovo e o ar circundante, provocando reduções na eclodibilidade e nascimento de pintinhos pequenos e desidratados. Já em uma alta umidade de incubação, há reduzida perda de água do ovo, o que pode ocasionar um estresse osmótico ao embrião, além de promover a eclosão precoce, nascimento de pintinhos molhados e a presença de albúmen residual (BARBOSA et al., 2013; MUELLER et al., 2015; BOLELI et al., 2016).

A viragem dos ovos é um procedimento realizado naturalmente pelas aves adultas, sendo de fundamental importância para o adequado desenvolvimento do embrião. Os ovos devem ser virados periodicamente durante a incubação. Entretanto, a viragem é um fator crítico particularmente entre o 3º e o 7º dia de incubação. Falhas na viragem dos ovos podem originar em aderências do embrião nas membranas extraembrionárias, além de prejudicar a utilização dos fluidos alantóicos e amnióticos, o crescimento do embrião e a eclodibilidade (FREEMAN; VINCE, 1974; DEEMING, 1989). Ademais, pode promover efeitos adversos na troca de gases realizada pela membrana corioalantoica (MUELLER et al., 2015). Segundo Mueller et al. (2015), com a falta de viragem há um atraso no deslocamento do albúmen para o âmnio, fazendo com que ele não seja absorvido. Esse albúmen não absorvido se torna viscoso e pesado, afundando na extremidade inferior do ovo e criando uma interposição entre a membrana corioalantoica e a membrana interna da casca, o que reduz as trocas gasosas do ovo com o ambiente externo.

Diversos parâmetros estão envolvidos na viragem dos ovos, como frequência, ângulo e plano de rotação dos ovos na incubadora, o que contribui para a complexidade desse procedimento (BOLELI et al., 2016). A frequência mínima que os ovos devem ser virados é de três vezes ao dia (MUELLER et al., 2015). Em incubadoras industriais, a viragem dos ovos é feita a cada hora até 18º dia de incubação e em um ângulo de 45º (DEEMING, 1989; LAUVERS; FERREIRA, 2011). A movimentação dos ovos deve ser exercida suavemente de modo a evitar a ruptura da membrana corioalantoica (BRITO, 2006; BOLELI et al., 2016).

A posição dos ovos dentro da incubadora também possui grande relevância para o correto desenvolvimento e sobrevivência do embrião, pois influencia na formação da câmara de ar, cuja posição e tamanho interferem na bicagem interna da casca pelo pintinho. Com o intuito de reproduzir as condições naturais, nas incubadoras horizontais, os ovos são colocados na posição horizontal. Em contrapartida, nas incubadoras verticais, os ovos são posicionados com a sua extremidade maior para cima (câmara de ar para cima), visando permitir as trocas gasosas (DEEMING, 1989; BOLELI et al., 2016). Caso os ovos sejam posicionados com a parte mais fina para cima, o pintinho irá se desenvolver com a cabeça

virada para a extremidade oposta da câmara de ar. Diante disso, a mortalidade pode ultrapassar a 10% e a taxa de refugagem pode ser maior que 40% (BRITO, 2006).

A ventilação da incubadora é de suma importância tão quanto a temperatura e a umidade. Esse parâmetro tem a finalidade de fornecer oxigênio e renovar o ar dentro da incubadora, de modo a conferir um fluxo de ar uniforme sobre os ovos e permitir efetivas trocas gasosas, transferência de calor e perda de água dos ovos para o ambiente (FREEMAN; VINCE, 1974; BOLELI et al., 2016). Também, promove o controle sanitário do incubatório por remover poeira e microrganismos, prevenindo a contaminação dos ovos (LAUVERS; FERREIRA, 2011). Freeman e Vince (1974) afirmam que uma concentração ótima de oxigênio (O₂) de 21% pode resultar em máxima eclodibilidade. Quanto ao teor de dióxido de carbono (CO₂), níveis acima de 1% podem afetar negativamente a eclodibilidade. No entanto, a sensibilidade do embrião ao CO₂ reduz ao longo do processo de incubação.

Estima-se que uma situação crônica de hipóxia ou hipercapnia na primeira metade do período de incubação é capaz de estimular o sistema circulatório, possuindo efeitos positivos no fluxo sanguíneo e no processo de eclosão. No final da incubação, o aumento dos níveis de CO₂ opera como um estímulo para a eclosão (CÂRLEA et al., 2010). De Smit et al. (2008) avaliaram o aumento gradual dos níveis de CO₂ nos dez dias iniciais da incubação e constataram uma aceleração do desenvolvimento embrionário, com formação de embriões de maior peso corporal e eclosão precoce. Atualmente, a aplicação de elevadas concentrações de CO₂ nos primeiros dias de incubação tem se tornado uma prática muito comum (CÂRLEA et al., 2010).

2.3 Utilização de nutrientes pelo embrião

A utilização de nutrientes se inicia já no primeiro dia de incubação, sendo estes nutrientes derivados do albúmen e da gema, os quais são ricos em proteínas e lipídeos (GOEL et al., 2013; UNI et al., 2003). O albúmen se mistura com o líquido amniótico e é consumido por via oral pelo embrião tardio. Uma porção do albúmen é absorvida pelo intestino delgado para expandir as reservas corporais de glicogênio e o resíduo não absorvido, que contém contribuições enzimáticas digestivas, entra no saco vitelínico (MORAN JÚNIOR, 2007). Anteriormente à eclosão, parte da gema é transportada para o intestino delgado, onde ocorre a sua digestão por enzimas pancreáticas e hidrolases da borda em escova, sendo a gema residual a única fonte de nutrientes até que o alimento exógeno a substitua (UNI et al., 2003; GEYRA et al., 2001).

Com a finalidade de atender a grande demanda energética do processo de eclosão, a energia é obtida mediante a glicólise anaeróbica, visto que a disponibilidade de oxigênio é limitada durante a transição da membrana corioalantoica para a respiração pulmonar (UNI; FERKET, 2004). Além do mais, as fibras musculares usadas no processo de eclosão são estritamente anaeróbicas (MORAN JÚNIOR, 2007). A obtenção de glicose ocorre por meio da quebra das reservas de glicogênio ou pela gliconeogênese a partir de aminoácidos (UNI; FERKET, 2004). Com a emergência da ave do ovo e a eficiente recuperação de oxigênio, a oxidação de ácidos graxos controla a produção energética (MORAN JÚNIOR, 2007).

Devido à grande mudança na fonte de nutrientes, quando a gema é substituída pela alimentação exógena, os primeiros dias após a eclosão são críticos para o desenvolvimento e sobrevivência dos pintinhos de frango (UNI; FERKET, 2004). Essa mudança é acompanhada pelo crescimento preferencial do intestino delgado e pela ativação de enzimas digestivas e vias de absorção (SKLAN, 2001).

As aves eclodem com o trato gastrointestinal imaturo (com o saco vitelínico ainda preso), não utilizando muito os carboidratos e aminoácidos da dieta exógena. Dessa forma, devido o intestino ser o principal órgão de suprimento de nutrientes, quanto mais cedo este atingir capacidade funcional (de digerir e absorver nutrientes), mais rapidamente o pintinho poderá utilizar os nutrientes da dieta e crescer eficientemente, expressando seu potencial genético (UNI; FERKET, 2004). O desenvolvimento precoce do trato gastrointestinal depende do acesso antecipado à alimentação (SAEED et al., 2019).

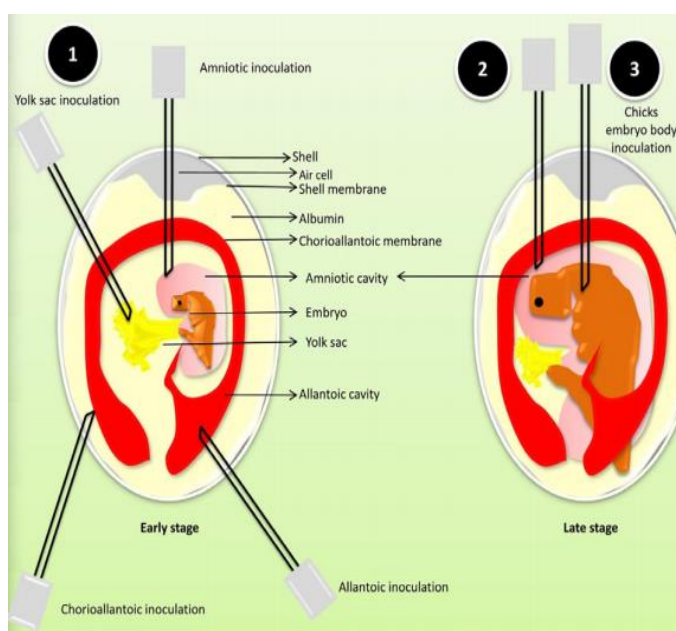
No entanto, embriões tardios e pintinhos podem sofrer estresse devido a um estado nutricional negativo originado pela falta de recursos corporais críticos (como glicogênio, músculo e gema), além disso, em condições práticas, o acesso à alimentação e água após a eclosão é atrasado de 24 a 48 horas (devido manejo das aves, sexagem, vacinação, transporte) (UNI; FERKET, 2004; NOURI et al., 2018). Por consequência, os pintinhos ficam mais suscetíveis a patógenos, perdem peso e o desenvolvimento de tecidos críticos é restrito. Aproximadamente 2% a 5% dos pintinhos não sobrevivem a esse período crítico pós-eclosão (por causa de reservas corporais limitadas), e muitos dos que sobrevivem apresentam um crescimento atrofiado, ineficiente utilização da alimentação, menor resistência a doenças ou baixo rendimento de carcaça (UNI; FERKET, 2004). Essas limitações nutricionais podem ser reduzidas através do fornecimento de alimentos imediatamente após a eclosão ou pela nutrição *in ovo* (UNI; FERKET, 2004).

2.4 Nutrição *in ovo*

A nutrição *in ovo* consiste na administração direta de nutrientes, como aminoácidos (TAHMASEBI; TOGHYANI, 2016), carboidratos (RETES et al., 2018), vitaminas (NOURI et al., 2018) e minerais (OLIVEIRA et al., 2015), suspensos em uma solução nos ovos durante o período de incubação, fornecendo-os diretamente para o embrião (SAEED et al., 2019). Essa técnica é empregada com o objetivo de melhorar o crescimento, modular a imunidade (GOEL et al., 2013), aumentar a eclodibilidade, melhorar o desempenho pós-eclosão e desenvolvimento ósseo (OLIVEIRA et al., 2015), além de obter efeitos positivos na morfologia intestinal (SOLTANI et al., 2019) e na antioxidação (ZHU et al., 2019).

A execução da técnica varia de acordo com local de inoculação, idade do embrião no momento da inoculação, solução da injeção, método de inoculação, volume da solução, tipo de diluente, entre outros fatores (SAEED et al., 2019; RETES et al., 2018). No que se refere ao local de inoculação, existem cinco rotas possíveis: o corpo do embrião, o líquido amniótico, a cavidade alantóica, a célula de ar e a gema (Figura 3) (SAEED et al., 2019). Dentre esses diferentes locais, o mais utilizado é a via amniótica, pois o embrião ingere o líquido amniótico e o seu conteúdo é exposto às células entéricas. No entanto, a posição apropriada da injeção é determinada de acordo com a substância injetada e seu modo de ação (SAEED et al., 2019).

Figura 3 - Locais de inoculação de substâncias no ovo embrionado



Fonte: Saeed et al. (2019).

Quanto ao procedimento de administração de nutrientes nos ovos embrionados, esse

pode ser de forma manual ou automática. Neves et al. (2017) aplicaram o procedimento manual de inoculação *in ovo*. Para isso, a sala de execução do procedimento foi higienizada e mantida a uma temperatura média de 30°C. Os ovos embrionados foram retirados da incubadora, higienizados na região de inserção da agulha e, previamente à inoculação, um pequeno orifício foi feito na casca do ovo com o auxílio da ovoscopia. Concluída a inoculação da solução, o orifício foi tampado com parafina fundida e os ovos foram retornados à incubadora. Para certificação do local de inoculação (âmnio), em cinco ovos-teste embrionados foi inoculado um corante solúvel em água, e em seguida, quebraram os mesmos para a averiguação do local atingido. Em relação ao método automático, esse é realizado por máquinas especializadas para vacinação *in ovo*. No ensaio de Oliveira et al. (2015), por exemplo, utilizou-se o injetor de múltiplos ovos Embrex Inovoject M (Zoetis; Florham Park, NJ) que permite injetar simultaneamente 56 ovos com um sistema de agulha dupla. A injeção dos ovos embrionados é feita por uma agulha injetora de ponta cega que é inserida através da célula de ar com o objetivo de atingir o âmnio. Após a injeção, os ovos retornam para as incubadoras.

Diversos nutrientes podem ser suplementados ao embrião durante o processo de incubação por meio da técnica *in ovo*, visando auxiliar tanto no desenvolvimento embrionário quanto durante o processo de eclosão. Tahmasebi e Toghyani (2016) investigaram os efeitos da administração *in ovo* de arginina (Arg), treonina (Thr) e da associação entre ambos os aminoácidos (Arg+Thr) no desempenho do crescimento, nos órgãos digestivos e na morfologia intestinal de frangos de corte. A injeção *in ovo* foi realizada aos 14 dias de incubação no líquido amniótico. Os grupos experimentais consistiam em um grupo controle (sem injeção) e 4 grupos de 0,5 mL de solução salina a 0,5% contendo diferentes dosagens de aminoácidos: 0; 35 mg/ovo de Arg; 25 mg/ovo de Thr; 35 + 25 mg/ovo de Arg + Thr. Os pesquisadores constataram que a eclodibilidade diminuiu significativamente com a injeção de *in ovo* de Arg e de Arg + Thr em comparação ao grupo controle. No entanto, o consumo de ração e o peso corporal foram aumentados pela administração *in ovo* dos aminoácidos. A conversão alimentar, embora não tenha sido influenciada pelos tratamentos na fase inicial e de crescimento, melhorou com a suplementação de Arg na fase de terminação. A injeção de Arg + Thr aumentou o peso jejunal em comparação com o grupo controle aos 42 dias de idade. Quanto à morfologia intestinal, a inclusão de Arg levou à maior altura das vilosidades e profundidade de cripta no duodeno, além disso, Arg + Thr aumentou significativamente a altura das vilosidades quando comparada ao controle no íleo. Com esses resultados, concluíram que a injeção de Arg e, principalmente, Thr no âmnio pode melhorar o consumo

de ração e o desempenho pós-eclosão dos frangos, o que pode ser mediado pelo desenvolvimento dos órgãos digestivos.

Tako et al. (2004) efetuaram a administração *in ovo* de 1,0 mL de uma solução de carboidratos (25 g de maltose/L, 25 g de sacarose/L, 200 g de dextrina/L em 5g de NaCl/L) no âmnio de ovos embrionados de frangos de corte aos 17,5 dias de incubação. Esses pesquisadores constataram que a administração de nutrientes exógenos no âmnio melhorou o desenvolvimento intestinal, aumentando o tamanho das vilosidades e a capacidade intestinal de digerir dissacarídeos, o que, provavelmente, levou a um maior peso corporal dos animais que receberam a nutrição *in ovo*. Já no ensaio de Salmanzadeh et al. (2012), ao 7º dia de incubação, ovos embrionados de frangos de corte foram inoculados no albúmen com uma solução de 0,5 mL de água deionizada contendo 75 ou 100 mg de glicose. Ao avaliarem o desempenho pós-eclosão das aves, melhorias foram observadas no ganho de peso e conversão alimentar nos grupos que receberam *in ovo* a glicose.

Nouri e colaboradores (2018) avaliaram os efeitos da nutrição *in ovo* de ácido fólico. Os grupos experimentais consistiam em um grupo controle (sem injeção), um grupo com injeção de 40 µg de água destilada, um grupo com injeção de 40 µg de ácido fólico, um com injeção de 80 µg e outro com injeção de 120 µg de ácido fólico (FA). A aplicação *in ovo* foi realizada no dia sete da incubação e o local injetado foi o albúmen. De acordo com os resultados obtidos por eles, nenhuma diferença significativa foi detectada na eclodibilidade. No entanto, o consumo de ração aumentou e a conversão alimentar foi melhorada com a injeção *in ovo* de ácido fólico, além disso, o ganho de peso, no dia 21 após a eclosão, melhorou significativamente em aves que receberam 120 µg de ácido fólico. Dessa forma, os pesquisadores concluíram que a aplicação *in ovo* de ácido fólico teve efeitos positivos nos frangos de corte. Araújo et al. (2019) efetuaram aos 17,5 dias de incubação a suplementação *in ovo* de diferentes concentrações de tocoferol (27,5; 38,5; 49,5; 60,4 UI). Segundo esses autores, melhorias foram obtidas nos parâmetros de eclosão bem como no desenvolvimento intestinal, sendo esse último responsável pela melhor conversão alimentar dos frangos de corte durante a fase de 0 a 21 dias de criação.

O estudo realizado por Oliveira et al. (2015) teve como objetivo avaliar os efeitos da injeção *in ovo* de Zn (zinco), Mn (manganês) e Cu (cobre), que são microminerais importantes para formação e força óssea, no âmnio dos ovos embrionados aos 17 dias de incubação. Foram utilizados quatro tratamentos: um grupo controle (não injetado), um grupo injetado com diluente (150 µL), dois grupos injetados com diluente (150 µL) contendo diferentes níveis de minerais: um com 0,181, 0,087 e 0,010 mg/mL de Zn, Mn e Cu, e outro

contendo 0,544, 0,260 e 0,030 mg/mL de Zn, Mn e Cu, respectivamente. Não foi observado um efeito significativo na eclodibilidade aos 20,5 dias de incubação. Porém, a eclodibilidade no dia 21,5 de incubação foi menor no grupo injetado com 0,544, 0,260 e 0,030 mg/mL de Zn, Mn e Cu, em comparação aos grupos não injetado e injetado com diluente. Os pesquisadores também relataram que os embriões que receberam essa maior concentração de minerais (0,544, 0,260 e 0,030 mg/mL de Zn, Mn e Cu) apresentaram um nível significativamente maior de cinza óssea em comparação com todos os outros tratamentos. Assim, concluíram que a injeção de soluções enriquecidas com minerais, embora a alta concentração tenha afetado negativamente a eclodibilidade, tem o potencial de melhorar a mineralização óssea dos frangos de corte.

A Tabela 1 ilustra, de maneira resumida, as diferenças na execução da nutrição *in ovo* e os resultados positivos observados nos estudos mencionados acima.

Tabela 1 – Resumo das diferenças metodológicas da nutrição *in ovo* encontradas na literatura

Referência	Tipo de solução	Dose	Volume de solução	Diluente	Idade do embrião	Melhorias
Tako et al. (2004)	Carboidratos	25 g/L de maltose; 25 g/L de sacarose; 200 g/L de dextrina	1,00 mL	Solução salina	17,5 dias	Desempenho pós-eclosão
Salmanzadeh et al. (2012)	Carboidrato	75 mg e 100 mg de glicose	0,50 mL	Água deionizada	7 dias	Desempenho pós-eclosão
Tahmasebi e Toghyani (2016)	Aminoácidos	35 mg de Arg; 25 mg de Thr e 35 + 25 mg/ovo de Arg + Thr	0,50 mL	Solução salina	14 dias	Desempenho pós-eclosão
Oliveira et al. (2015)	Minerais	0,544 mg/mL de	0,15 mL	Diluente comercial	13 e 15 dias	Mineralização óssea

		Zn, 0,260 mg/mL de Mn e 0,030 mg/mL de Cu				
Araújo et al. (2019)	Vitamina	27,5; 38,5; 49,5; 60,4 UI de tocoferol	0,50 mL	Óleo de girassol	17,5 dias	Parâmetros de eclosão e desempenho pós-eclosão
Nouri et al, (2018)	Vitamina	40 µg, 80 µg e 120 µg de ácido fólico	0,04 mL	Água destilada	7 dias	Desempenho pós-eclosão

3. Considerações finais

O desenvolvimento embrionário e pós-eclosão das aves é limitado pelo conteúdo nutricional do ovo, além disso, estes animais eclodem com um trato gastrointestinal ainda imaturo, sendo o desenvolvimento precoce do mesmo dependente do acesso antecipado à alimentação. Porém, em situações práticas, muitas vezes esse acesso à alimentação é atrasado em até 48 horas. Desta forma, a nutrição *in ovo* é uma tecnologia que pode ser empregada a fim de reduzir essas limitações nutricionais.

Os benefícios da aplicação da técnica *in ovo* em frangos de corte são claros, dentre eles estão o aumento da eclodibilidade, melhoria no desempenho pós-eclosão e melhorias nos desenvolvimentos intestinal e ósseo. No entanto, a técnica ainda não está bem definida, ocorrendo variações na mesma quanto ao modo de inoculação, idade do embrião no momento da injeção, local de injeção, tipo e volume de solução utilizada, entre outros. Logo, mais estudos devem ser realizados a fim de se estabelecer a sua melhor forma de aplicação.

Referências

ARAÚJO et al. Effect of vitamin E in ovo feeding to broiler embryos on hatchability, chick quality, oxidative state, and performance. **Poultry Science**, v. 98, n. 9, p. 3652-3661, 2019.

BARBOSA, V. M. et al. The effects of relative humidity and turning in incubators machines on the incubation yield and chick performance. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 1, p. 89-98, 2013.

BOLELI, I.C. et al. Poultry egg incubation: Integrating and optimizing production efficiency. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 18, n. 2, p. 1-16, 2016.

BRITO, A. B. Problemas microbiológicos na incubação artificial. **Artigo técnico POLINUTRI**, 2006.

CÂRLEA, L. et al. Study on the influence of carbon dioxide on embryonic development in chickens. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies**, v. 67, n. 1/2, p. 127-131, 2010.

CARVALHO, L. S. S.; FERNANDES, E. A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 7, n. 1, p. 35-44, 2013.

DAVIS, C., REEVES, R. High value opportunities from the chicken egg. A report for the **Rural Industries Research and Development Corporation**. RIRDC Publication, 2002.

DEEMING, D. C. Characteristics of unturned eggs: Critical period, retarded embryonic growth and poor albumen utilization. **British Poultry Science**, v. 30, n. 2, p. 239-249, 1989.

FREEMAN, B. M.; VINCE, M. A. **Development of the avian embryo**. London: Chapman and Hall, 1974. 362 p.

GABRIELLI, M. G.; ACCILI, D. The chick chorioallantoic membrane: A model of molecular, structural, and functional adaptation to transepithelial ion transport and barrier function during embryonic development. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, p. 12, 2010.

GADELHA, A. I. B. B. et al. Os anexos embrionários de aves: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e54310212498, 2021.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 776-782, 2001.

GIVISIEZ, P. E. N. et al. Chicken embryo development: metabolic and morphological basis for in ovo feeding technology. **Poultry Science**, v. 99, n. 12, p. 6774–6782, 2020.

GOEL, A. Effects of in ovo administration of vitamins on post hatch-growth, immunocompetence and blood biochemical profiles of broiler chickens. **Indian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 9, p. 916-921, 2013.

GONÇALVES, F. M. et al. Nutrição in ovo: estratégia para nutrição de precisão em sistemas de produção avícola. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, p. 45-55, 2013.

HULET, R. M. Symposium: managing the embryo for performance managing incubation: where are we and why? **Poultry Science**, v. 86, n. 5, p. 1017-1019, 2007.

IPEK, A. et al. The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. **Archiv Fur Geflugelkunde**, v. 68, n. 3, 2004.

KLEIN, S. et al. Localization of the fertilized germinal disc in the chicken egg before incubation. **Poultry Science**, v. 81, p. 529–536, 2002.

KULSHRESHTHA, G. et al. High value applications and current commercial market for eggshell membranes and derived bioactives. **Food Chemistry**, v. 382, p. 132270, 2022.

LAUVERS, G.; FERREIRA, V. P. A. Fatores que afetam a qualidade dos pintos de um dia, desde a incubação até recebimento na granja. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 16, p. 1-19, 2011.

MELO, A. S. et al. Características físico-químicas e sensoriais de aves e ovos. **PubVet**, v. 9, n. 12, p. 536-543, 2015.

MORAN JUNIOR, E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, n. 5, p. 1043-1049, May 2007.

MUELLER, C. A. et al. The physiology of the avian embryo. In: **Sturkie's avian physiology**. Academic Press, 2022, p. 995-1026.

NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. Egg physical characteristics and hatchability. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, n. 3, p. 297-303, 2002.

NEVES, D. G. et al. Effects of in ovo feeding with glycerol for broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, p. 434–440, 2017.

NOURI, S. et al. Effect of in ovo feeding of folic acid on subsequent growth performance and blood constituents levels in broilers. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, Dordrecht, v. 24, n. 3, p. 463-470, 2018.

NYS, Y.; GUYOT, N. Egg formation and chemistry. In: **Improving the safety and quality of eggs and egg products**. Woodhead publishing, 2011. p. 83-132.

OLIVEIRA, T. F. B. et al. Effects of in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper on the hatchability and bone parameters of broiler hatchlings. **Poultry Science**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 2488-2494, 2015.

PEEBLES, E. D.; BRAKE, J. The role of the cuticle in water vapor conductance by the eggshell of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 65, n. 6, p.1034-1039, 1986.

RETES, P. L. et al. *In ovo* feeding of carbohydrates for broilers—a systematic review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p.361–369, 2018.

RIVERA, E. M. et al. Synthesis of hydroxyapatite from eggshells. **Materials Letters**, v. 41, n. 3, p. 128-134, 1999.

SAEED, M. et al. In ovo delivery of various biological supplements, vaccines and drugs in poultry: current knowledge. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 8, p. 3727-3739, 2019.

SALMANZADEH, M. et al. The effects of in ovo injection of glucose and magnesium in

broiler breeder eggs on hatching traits, performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. **Arch. Geflügelkd.**, v. 76, p. 277-284, 2012.

SELIM, S.A.; GAAFAR, K. M.; EL-BALLAL, S. S. Influence of in-ovo administration with vitamin e and ascorbic acid on the performance of muscovy ducks. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 24, n.3, p. 264-271, Nov. 2012.

SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 57, n. 4, p. 415-428, 2001.

SOLTANI, T. The effects of in ovo injection of ascorbic acid on hatchability, growth performance, intestinal morphology, and tibia breaking strength in 36h post hatch fasted broiler chickens. **Poultry Science Journal**, v.7, n. 1, p. 43-49, 2019.

TAHMASEBI, S.; TOGHYANI, M. Effect of arginine and threonine administered in ovo on digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 5, p. 947-956, 2016.

TAKO, P.; FERKET, P.; UNI, Z. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and β hydroxy- β -methylbutyrate on the development of chicken intestine. **Poultry Science**, v. 83, n. 12, p. 2023-2028, 2004.

TULLETT, S. G. Science and the art of incubation. **Poultry Science**, v. 69, n. 1, p. 1-15, 1990.

UNI, Z. et al. Morphological, molecular and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. **Poultry Science**, v. 82, n.11, p. 1747-1754, 2003.

UNI, Z.; FERKET, R. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 1, p. 101-111, 2004.

VIEIRA, S. L. Chicken embryo utilization of egg micronutrients. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 1, p. 01-08, 2007.

VIEIRA, S. L.; MORAN, E.T. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, n. 2, p. 136-142, 1999.

WILLEMSSEN, H. et al. High-and low-temperature manipulation during late incubation: effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, v. 89, n. 12, p. 2678-2690, 2010.

ZHU, Y. F. Effect of in ovo feeding of Vitamin C on antioxidation and immune function of broiler chickens. **Animal**, v. 13, n.9, p. 1927-1933, 2019.