



CARLA OLIVEIRA RESENDE

**NUTRIÇÃO “IN OVO”: INOCULAÇÃO DE
CARBOIDRATOS EM OVOS EMBRIONADOS DE
FRANGOS DE CORTE – REVISÕES SISTEMÁTICAS E
METANÁLISES**

LAVRAS - MG

2021

CARLA OLIVEIRA RESENDE

**NUTRIÇÃO “IN OVO”: INOCULAÇÃO DE CARBOIDRATOS EM
OVOS EMBRIONADOS DE FRANGOS DE CORTE – REVISÕES
SISTEMÁTICAS E METANÁLISES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Aspectos Nutritivos, Fisiológicos e Metabólicos na Produção e Reprodução de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

Orientador

Dra. Renata Ribeiro Alvarenga

Co-orientadora

LAVRAS-MG

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Resende, Carla Oliveira.

Nutrição in ovo: inoculação de carboidratos em ovos embrionados de frangos de corte - revisões sistemáticas e metanálises / Carla Oliveira Resende. - 2021.

104 p.

Orientador(a): Márcio Gilberto Zangeronimo.

Coorientador(a): Renata Ribeiro Alvarenga.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. inoculação "in ovo". 2. frango de corte. 3. metanálise. I. Zangeronimo, Márcio Gilberto. II. Alvarenga, Renata Ribeiro. III. Título.

CARLA OLIVEIRA RESENDE

**NUTRIÇÃO “IN OVO”: INOCULAÇÃO DE CARBOIDRATOS EM OVOS
EMBRIONADOS DE FRANGOS DE CORTE – REVISÕES SISTEMÁTICAS E
METANÁLISES**

**“IN OVO” NUTRITION: CARBOHYDRATES INOCULATION IN
EMBRYONATED BROILER EGGS – SYSTEMATIC REVIEWS AND META-
ANALYSIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Aspectos Nutritivos, Fisiológicos e Metabólicos na Produção e Reprodução de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 26 de novembro de 2021

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo	UFLA
Dr. Luciano José Pereira	UFLA
Dra. Juliana Tensol Pinto	UFLA
Dr. Adriano Geraldo	IFMG
Dr. Cleverson Luis Nascimento Ribeiro	IFSUDESTEMG


Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

Dra. Renata Ribeiro Alvarenga
Co-orientadora

**LAVRAS-MG
2021**

Aos meus pais, Maryjane e Kleber, por serem meus exemplos de vida, por me proporcionarem sempre o melhor que podiam e pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos, Alexander e Caroline, pelo amor, paciência, companheirismo e conforto em todos os momentos da minha vida.

Ao meu afilhado, Henrique, por ser responsável por tantos sorrisos e leveza na vida.

Ao meu marido, André, meu grande amor, pelo carinho, apoio, companheirismo e por ser meu porto seguro.

OFEREÇO

A Deus por ter me ofertado tanto, por ter me mostrado que existe o tempo certo para que tudo acontecesse da melhor forma possível e que só por hoje eu consigo!

Gratidão pela vida que tenho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por me amparar em todos os momentos de dificuldade, por me guiar, fortalecer e por ter me ofertado tanto.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de ter aprendido com excelentes professores e por ter permitido vivenciar momentos únicos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu orientador, Márcio Gilberto Zangeronimo, pelos ensinamentos, dedicação, amizade e por ser um exemplo de profissional na minha vida desde a graduação.

Aos professores dos departamentos de zootecnia e veterinária pelo apoio, dedicação e ensinamentos.

Aos amigos de Pós-Graduação, pela contribuição neste trabalho, pelo incentivo, apoio e amizade.

Aos doutores componentes da banca: Dr Juliano Vogas Peixoto, Dr. Luciano José Pereira, Dr. Adriano Geraldo e Dra. Juliana Tensol Pinto, e aos suplentes Dra. Renata Ribeiro Alvarenga e Dr. Cleverton Luís Nascimento Ribeiro pela atenção, disponibilidade, apoio e contribuição para o trabalho e para o meu aprendizado.

Aos meus pais, Maryjane e Kleber pelo amor e apoio em todas as minhas decisões e aos meus irmãos, Caroline e Alexander pelo amor e companheirismo. Ao meu afilhado, Henrique, que me faz transbordar de felicidade e paz.

Ao meu marido, André Lasmar, pelo amor, paciência, conforto e apoio em todos os momentos.

As amigas Melissa, Camila, Isabela, Carol, Pathula, Ruana, Raysa e ao amigo Gabriel pelas palavras de carinho, conforto e aos momentos de diversão.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

RESUMO

O aumento da capacidade produtiva decorrente do melhoramento genético em frangos de corte aumentou a necessidade de um aporte nutricional adequado para a fase embrionária, já que a quantidade de nutrientes existentes no ovo pode não suprir as necessidades para alcançar ótimo desempenho pós-eclosão. Portanto, objetivou-se com esse estudo a elaboração de revisões sistemáticas e metanálises que contribuíssem para avaliar o uso de carboidratos na nutrição *in ovo* de frango de corte, demonstrando os efeitos da técnica na taxa de eclodibilidade e desempenho. Para isso, duas revisões sistemáticas e metanálises foram realizadas. Na primeira procurou-se definir quais carboidratos e qual a melhor metodologia para inoculação *in ovo* desses nutrientes tomando como base os parâmetros de eclosão (eclodibilidade e peso à eclosão) e/ou pós-eclosão (desempenho) em frangos de corte. A busca por artigos científicos foi realizada em Setembro de 2021 em oito bases de dados (Embase, Google Acadêmico, Scielo, Science Direct, Scopus, Periódicos Capes, Pubmed e Web of Science), utilizando a seguinte combinação de palavras-chave: (*carbohydrate AND "in ovo"*). Apenas artigos que inocularam carboidratos em ovos embrionados de frango de corte, que utilizaram grupo placebo e que apresentaram as variáveis de interesse foram selecionados. A metanálise foi realizada utilizando o modelo de efeitos aleatórios para o cálculo do intervalo de confiança (IC) entre as diferenças do grupo inoculado com carboidratos e o controle placebo. O viés de publicação foi avaliado pelo gráfico de *funnel plot*. O carboidrato mais estudado foi a glicose (57% dos estudos). A maioria dos carboidratos, com exceção da dextrina e da maltose, reduziu ($P < 0,05$) a eclodibilidade. Com exceção da dextrina, todos aumentaram ($P < 0,05$) o peso à eclosão. A inoculação de dextrina ou glicose aumentou ($P < 0,05$) o ganho de peso após a eclosão. Apenas a glicose aumentou ($P < 0,05$) o consumo de ração. Não houve efeito ($P > 0,05$) da inoculação de carboidratos na taxa de conversão alimentar. A inoculação no âmnio aumentou ($P < 0,05$) o ganho de peso e reduziu ($P < 0,05$) a conversão alimentar, porém, diminuiu ($P < 0,05$) a eclodibilidade, assim como a inoculação na câmara de ar e na gema. Por outro lado, a inoculação no albúmen aumentou ($P < 0,05$) o peso à eclosão e o ganho de peso e reduziu ($P < 0,05$) a conversão alimentar. A inoculação das soluções entre o 7º e o 10º dia de incubação, utilizando água deionizada como veículo melhorou ($P < 0,05$) todos os parâmetros de desempenho sem influenciar ($P > 0,05$) a eclodibilidade. Na segunda metanálise, somente artigos contendo a inoculação de glicose foram analisados, com o objetivo de determinar qual a quantidade e a metodologia mais adequadas de utilização deste nutriente *in ovo*. A metodologia desta metanálise foi semelhante à descrita anteriormente. A inoculação *in ovo* de 75 e 100 mg de glicose aumentou o peso ao nascimento e o ganho de peso, sem influenciar a eclodibilidade. A dose de 75 mg/ovo, além de melhorar os parâmetros mencionados, reduziu a taxa de conversão alimentar. Conclui-se que a inoculação *in ovo* com carboidratos pode ser utilizada para melhorar o desempenho de frangos de corte, sendo a dextrina o carboidrato mais adequado, seguida da glicose (na dose de 75 mg/ovo) e da maltose. As soluções devem ser inoculadas no albúmen entre o 7º e o 10º dia de incubação, utilizando água deionizada como veículo de diluição.

Palavras chave: Eclodibilidade; Nutrição embrionária; Desempenho, Avicultura; Incubação.

ABSTRACT

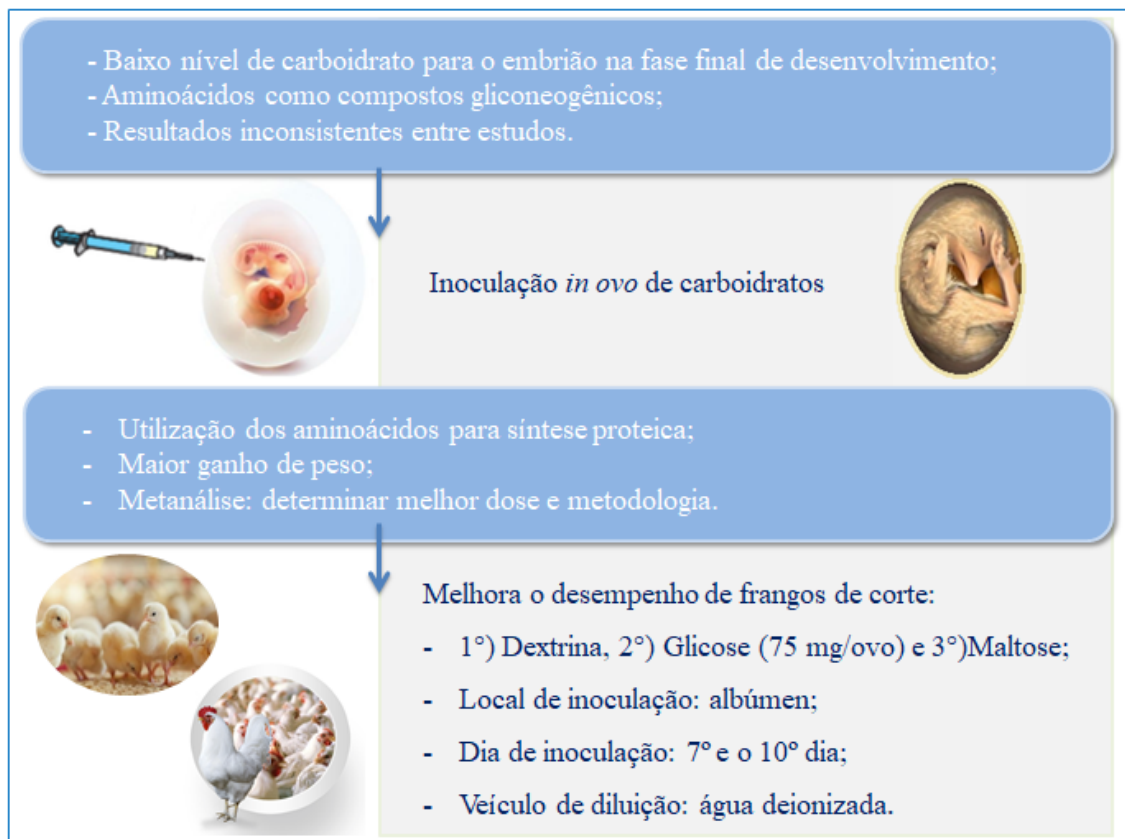
The increase in reproductive capacity resulting from genetic improvement in broilers has increased the need for an adequate nutritional intake for the embryonic stage, since the amount of nutrients in the egg may not meet the needs to achieve optimal post-hatching performance. Therefore, the aim of this study was the development of systematic reviews and meta-analyses that could contribute to evaluate the use of carbohydrates in the in ovo nutrition of broiler chicken, demonstrating the effects of the technique on hatchability rate and performance. To this end, two systematic reviews and meta-analyses were performed. In the first one, we tried to define which carbohydrates and the best methodology for in ovo inoculation of these nutrients based on the hatchability parameters (hatchability and hatch weight) and/or post-hatching (performance) in broiler chickens. The search for scientific articles was carried out in September 2021 in eight databases (Embase, Academic Google, Scielo, Science Direct, Scopus, Capes Periodicals, Pubmed and Web of Science), using the following combination of keywords: (carbohydrate AND "in ovo"). We only selected the articles that described the carbohydrates inoculation in embryonated broiler eggs, which used a placebo group and presented the variables of interest. The meta-analysis was performed using the random effects model to calculate the confidence interval (CI) between the differences in the carbohydrate inoculated group and the placebo control. Publication bias was assessed using a funnel plot. The most studied carbohydrate was glucose (57% of the studies). Most carbohydrates, with the exception of dextrin and maltose, reduced ($P < 0.05$) hatchability. Excluding dextrin, all carbohydrates increased ($P < 0.05$) hatch weight. Dextrin or glucose inoculation increased ($P < 0.05$) weight gain after hatching. Only glucose increased ($P < 0.05$) feed intake. There was no effect ($P > 0.05$) of carbohydrate inoculation on the feed conversion ratio. Amnion inoculation increased ($P < 0.05$) weight gain and reduced ($P < 0.05$) feed conversion, however, it decreased ($P < 0.05$) hatchability, as well as air chamber inoculation and in the egg yolk. On the other hand, albumen inoculation increased ($P < 0.05$) hatching weight and weight gain and reduced ($P < 0.05$) feed conversion. The inoculation of solutions between the 7th and the 10th day of incubation, using deionized water as a vehicle improved ($P < 0.05$) all performance parameters without influencing ($P > 0.05$) hatchability. In the second meta-analysis, only articles containing glucose inoculation were analyzed, aiming to determine the most appropriate amount and best methodology for using this nutrient in ovo. The methodology of this meta-analysis was similar to that described above. In ovo inoculation of 75 and 100 mg of glucose increased birth weight and weight gain, without influencing hatchability. The dose of 75 mg/egg, in addition to improving the mentioned parameters, reduced the feed conversion rate. It is concluded that in ovo inoculation with carbohydrates can be used to improve the performance of broiler chickens, with dextrin being the most suitable carbohydrate, followed by glucose (at a dose of 75 mg/egg) and maltose. The solutions should be inoculated into the albumen between the 7th and the 10th day of incubation, using deionized water as a dilution vehicle.

Keywords: Hatchability; Embryonic nutrition; Performance, Poultry; Incubation.

Resumo Interpretativo e Resumo Gráfico

Elaborado por **Carla Oliveira Resende** e orientado por **Márcio Gilberto Zangeronimo**

A inoculação *in ovo* de carboidratos é uma técnica de nutrição precoce que poderia reduzir a utilização de aminoácidos para obtenção de energia, direcionando-os para outras funções, como a síntese protéica nos primeiros dias de vida do pintinho. Além disso, os carboidratos são capazes de elevar as atividades das enzimas intestinais, aumentando a eficiência digestiva e absorptiva dos nutrientes. Dessa forma, a suplementação de carboidratos *in ovo* poderia resultar em maior ganho de peso e melhor conversão alimentar após eclosão. No entanto, resultados inconsistentes com a inoculação de carboidratos são encontrados na literatura. Fatores como tipo e quantidade de carboidrato inoculado, veículo de diluição, local de inoculação e idade embrionária de inoculação estão diretamente relacionados à discrepância nos resultados. Assim, a definição de qual carboidrato e qual técnica proporcionam melhores resultados são importantes para consolidar a nutrição *in ovo* como uma técnica capaz de melhorar as taxas de produção de aves. Através da metanálise é possível avaliar se a inoculação *in ovo* de carboidratos pode influenciar as características de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte e quais carboidratos e metodologias de inoculação poderiam trazer melhores resultados. Portanto, após a realização da metanálise foi possível demonstrar que a inoculação *in ovo* com carboidratos pode ser utilizada para melhorar o desempenho de frangos de corte, sendo a dextrina o carboidrato mais adequado, seguida da glicose (na dose de 75 mg/ovo) e da maltose. As soluções devem ser inoculadas no albúmen entre o 7º e o 10º dia de incubação, utilizando água deionizada como veículo de diluição.



Metanálise: inoculação de carboidratos em ovos embrionados, com o objetivo de avaliar os melhores resultados sobre os parâmetros de eclodibilidade e desempenho de frangos de corte.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1:

- Figura 1** Fluxograma da busca e seleção dos artigos a partir da seguinte combinação de palavras: (*carbohydrate AND "in ovo"*). Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação desta revisão..... 57
- Figura 2** Resumo da variação (Δ) na eclodibilidade (%) de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação com veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.... 58
- Figura 3** Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação..... 59
- Figura 4** Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero..... 60
- Figura 5** Resumo da variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero..... 61
- Figura 6** Resumo da variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação

	ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.....	62
Figura 7	Gráfico de <i>Funnel Plot</i> com intervalo de confiança de 95% obtidos com o modelo de efeito aleatório linear para eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso, consumo de ração e taxa de conversão alimentar como resultado.....	63
Figura 8	Variação (Δ) na eclodibilidade dos ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.....	64
Figura 9	Variação (Δ) no peso à eclosão (g) de frangos de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.....	65
Figura 10	Variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.....	66
Figura 11	Variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.....	67

Figura 12	Variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.....	68
------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

ARTIGO 2:

Figura 1	Fluxograma da busca e seleção dos artigos com base na seguinte combinação de palavras: (<i>carbohydrate AND "in ovo"</i>) e a seguir estudos selecionados com inoculação apenas de glicose <i>in ovo</i> . Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação desta revisão.....	88
-----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Figura 2	Resumo da variação (Δ) na eclodibilidade (%) de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.....	89
-----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Figura 3	Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação com veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.....	90
-----------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Figura 4	Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.....	91
-----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Figura 5	Resumo da variação (Δ) do consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e	
-----------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

	veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.....	92
Figura 6	Resumo da variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.....	93
Figura 7	Gráfico de <i>Funnel Plot</i> com intervalo de confiança de 95% obtidos com o modelo de efeito aleatório linear para eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso, consumo de ração e taxa de conversão alimentar como resultado.....	94
Figura 8	Variação (Δ) na eclodibilidade de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada...	95
Figura 9	Variação (Δ) do peso à eclosão (g) de frangos de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.....	96
Figura 10	Variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.....	97
Figura 11	Variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a	

comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada..... 98

Figura 12

Varição (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frango de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada..... 99

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1:

Tabela 1	Caracterização dos estudos selecionados.....	53
Tabela 2	Pontuação dos artigos de acordo com os critérios para avaliar a qualidade da evidência.....	54
Tabela 3	Principais resultados dos estudos avaliados.....	55
Tabela 4	Resumo dos principais resultados da metanálise, considerando o tipo de carboidrato e a metodologia <i>in ovo</i> utilizada.....	56

ARTIGO 2:

Tabela 1	Caracterização dos estudos selecionados.....	84
Tabela 2	Pontuação dos artigos de acordo com os critérios para avaliar a qualidade da evidência.....	85
Tabela 3	Principais resultados dos estudos avaliados.....	86
Tabela 4	Resumo dos principais resultados da metanálise, considerando as doses de glicose inoculadas <i>in ovo</i> e a metodologia utilizada.....	87

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	11
1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Estrutura do ovo e desenvolvimento embrionário.....	13
2.2 Composição do ovo.....	15
2.3 Utilização de nutrientes do ovo pelo embrião.....	17
2.4 Inoculação <i>in ovo</i> de nutrientes.....	19
2.5 Inoculação <i>in ovo</i> de carboidratos.....	21
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
4. REFERÊNCIAS	25
SEGUNDA PARTE	35
De acordo com as normas da <i>Animal Feed Science and Technology</i>	35
ARTIGO 1: NUTRIÇÃO <i>IN OVO</i> COM CARBOIDRATOS PARA FRANGOS DE CORTE: UMA METANÁLISE	35
ARTIGO 2: NUTRIÇÃO <i>IN OVO</i> COM GLICOSE PARA FRANGOS DE CORTE: UMA METANÁLISE.....	69

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a preocupação em relação ao fornecimento de alimentos têm crescido devido ao aumento na demanda mundial por proteína de origem animal, as alterações nos hábitos alimentares da população e as exigências em relação à qualidade e segurança alimentar. Um dos segmentos de proteína animal que mais cresceu foi a produção de carne de frango, com um aumento exponencial em seu consumo em virtude do reduzido preço de mercado, alto valor nutricional e maior quantidade de proteína produzida em curto espaço de tempo, comparado a outras espécies.

Na avicultura, a intensa seleção genética, as novas tecnologias e inovações permitiram a criação de linhagens de frango de corte de rápido desenvolvimento, atingindo o peso de abate mais cedo. Dessa maneira, considerando que o tempo de vida das aves seja de aproximadamente 42 dias, assume-se que o tempo de incubação seja um período relativamente importante, por representar cerca de 30% do ciclo de vida do animal.

Durante a fase de incubação, o embrião utiliza os nutrientes presentes no ovo para o seu desenvolvimento. No entanto, somente 1% do total desses nutrientes é formado por carboidratos, dos quais 0,3% são constituídos por glicose livre, que é o principal substrato energético para as células, principalmente em condições anaeróbicas. No final do período de incubação, o metabolismo anaeróbico aumenta em função da atividade muscular para a bicagem da casca. Nesse momento, a necessidade por glicose é consideravelmente aumentada. A falta desse substrato faz com que as células utilizem aminoácidos como compostos gliconeogênicos para a manutenção da glicemia. Além disso, antes da primeira alimentação exógena, a glicemia é mantida por glicogenólise e gliconeogênese a partir de aminoácidos no fígado, limitando a utilização desses nutrientes para a síntese proteica e, conseqüentemente, a taxa de crescimento nos primeiros dias de vida.

Nesse sentido, a inoculação *in ovo* de carboidratos poderia reduzir a utilização e aminoácidos para obtenção de energia, direcionando-os para outras funções, como a síntese protéica nos primeiros dias de vida. Além disso, os carboidratos são capazes de elevar as atividades das enzimas intestinais, aumentando a eficiência digestiva e absorptiva dos nutrientes. Dessa forma, a suplementação de carboidratos *in ovo* poderia resultar em maior ganho de peso e melhor conversão alimentar após eclosão.

No entanto, resultados inconsistentes com a inoculação de carboidratos são encontrados na literatura. Fatores como tipo e quantidade de carboidrato inoculado, veículo de diluição, local de inoculação e idade embrionária de inoculação estão diretamente relacionados à discrepância nos resultados. Assim, a definição de qual carboidrato e qual metodologia proporcionam melhores resultados são importantes para consolidar a nutrição *in ovo* como uma técnica capaz de melhorar as taxas de produção em aves. Portanto, objetivou-se com o presente estudo verificar, por meio da metanálise, se a inoculação *in ovo* de carboidratos pode influenciar as características de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte e quais carboidratos e metodologias de inoculação poderiam trazer melhores resultados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Estrutura do ovo e desenvolvimento embrionário

Diferente dos mamíferos, as aves possuem apenas o conteúdo presente no ovo para a formação e desenvolvimento do embrião e também para garantir a reserva energética no período pós-eclosão (GONÇALVES et al., 2013). Dessa forma, a qualidade e quantidade de nutrientes disponíveis influenciam o desenvolvimento adequado do embrião e a sobrevivência do pintinho após a eclosão (LOPEZ et al., 1992).

O ovo é composto por albúmen, gema e pela casca, os quais devem conter os nutrientes necessários ao desenvolvimento do embrião durante a incubação e logo após a eclosão. O albúmen encontra-se abaixo das membranas da casca e fornece aminoácidos, água e minerais ao embrião (DAVIS; REEVES, 2002). Além disso, auxilia na inércia térmica do ovo e protege contra infecções microbianas (STURKIE, 1998).

No centro do ovo encontra-se a gema, sustentada pela chalaza, formada por proteínas e lipídeos (EVERAERT; DECUYPERE, 2013). No terço final da incubação, a gema é absorvida pelo embrião, garantindo assim suprimento energético e nutritivo por até 48 horas após a eclosão (DEEMING, 2002; GONÇALVES et al., 2013). Já a casca do ovo, além de ser fonte de cálcio, também serve como barreira mecânica contra entrada de microrganismos e controle de trocas gasosas (ALCROFT, 1964). A casca possui um fino revestimento externo, chamado de cutícula, e duas membranas semipermeáveis em sua face interna. Após a postura, com o resfriamento do ovo, a membrana interna retrai, formando a câmara de ar na extremidade mais larga do ovo, onde se concentram as trocas gasosas entre meio externo e o embrião (TULLET, 1990).

Concomitantemente ao desenvolvimento embrionário, ocorre, a partir dos anexos germinativos (endoderme, mesoderme e ectoderme), a formação de anexos embrionários: âmnion, saco vitelínico, córion e alantóide (BARBOSA, 2011). O âmnion é uma membrana que envolve o embrião. É formado 30 horas após o início da incubação por meio do crescimento da prega cefálica e se completa por volta de 72 horas, com a união da prega caudal, dando origem a uma cavidade cheia de líquido, chamado de líquido amniótico (FREEMAN; VINCE, 1974). Esse líquido tem a função de hidratar, evitar aderências a outras membranas e proteger o embrião contra choques mecânicos e térmicos (ROMANOFF, 1960). Além disso, fornece água e nutrientes, auxiliando na preparação do trato gastrointestinal para a nutrição pós-eclosão. O líquido amniótico começa a ser

absorvido pelo embrião entre o 10º e o 13º dia de incubação, sendo totalmente absorvido até o 18º dia (BOHORQUEZ, 2010).

Com 48 horas de incubação surge o saco vitelínico como uma extensão do trato digestório, delimitando a gema. Por volta do 12º dia de incubação essa estrutura é unida ao intestino delgado na junção do jejuno e do íleo (DEEMING, 2002). A membrana do saco vitelínico atua como um órgão digestivo de absorção e tem a função de fornecer nutrientes para o embrião (FREEMAN; VINCE, 1974). Além de fornecer nutrientes, a membrana do saco vitelínico é o principal local de crescimento dos vasos sanguíneos, formação de células do sangue e de proliferação de células-tronco (FOYE, 2005). Antes da eclosão, o saco vitelínico residual é inserido na cavidade abdominal do animal, constituindo a única fonte de nutrientes após o nascimento até o fornecimento de alimentação exógena (NOY et al., 2001).

O córion envolve todas as estruturas embrionárias e está localizado logo abaixo da casca. Atua como uma membrana de proteção, além de participar da mobilização de minerais da casca para a formação do esqueleto do embrião. Com o desenvolvimento do embrião, o córion se une ao alantóide e desempenha função respiratória (GABRIELLI et al., 2010). A formação do alantóide inicia-se por volta de 65 a 69 horas de incubação como uma projeção do intestino grosso. Ao se unir ao córion, forma a membrana cório-alantóide (DEEMING, 2002). Essa é responsável pelo equilíbrio ácido-base, reabsorção de água e eletrólitos, funciona como órgão respiratório e auxilia no transporte de cálcio da casca para o embrião (FOYE, 2005). Também recebe o descarte de resíduos dos rins (GABRIELLI; ACCILI, 2010).

O desenvolvimento embrionário passa por quatro fases: a organogênese, caracterizada pelo início da organização do sistema nervoso e formação dos órgãos e tecidos; a morfogênese, que compreende o processo de constituição da forma do indivíduo; a fase de integração funcional, quando os órgãos passam a atuar de forma interligada; e a fase final, a partir do 14º dia, quando ocorre a maturação embrionária até os 21 dias, momento em que o pintinho está pronto para eclodir (DEEMING, 2002).

O embrião é formado a partir da fecundação que ocorre no infundíbulo, dando origem ao zigoto, o qual evolui juntamente com a formação do ovo dentro do aparelho reprodutor da ave, em um processo que dura em torno de 26 horas (FIUZA et al., 2006). No momento da postura, o zigoto já sofreu sucessivas divisões, passando pelas fases de mórula, blástula e início da formação da área pelúcida, seguida pelo processo de

gastrulação. A área pelúcida se divide em duas partes (epiblasto e hipoblasto) quando, por fim, o ovo está pronto para postura (CESARIO, 2013).

Após 18 horas da postura do ovo, inicia-se a formação do intestino primitivo do embrião (MAIORKA; ROCHA, 2009), e entre 19 e 20 horas inicia-se a formação da placa e tubo neural. No quinto dia de incubação ocorre um aumento do saco vitelínico e do alantóide, já no nono dia o embrião passa a ter aparência própria da espécie. Com quatorze dias de incubação, a cabeça do embrião se posiciona na direção da câmara de ar. No 16º dia de incubação ocorre desaparecimento total do albúmen e no 18º dia, o líquido amniótico é completamente ingerido (BOHORQUEZ, 2010). Esses eventos favorecem o início das funções do sistema gastrointestinal do embrião (FERKET; UNI, 2006). Após, aproximadamente, vinte dias do início da incubação o pintinho rompe o âmnio e começa a respirar por meio da câmara de ar, iniciando, aos 21 dias de incubação, o processo de saída da casca do ovo (CESARIO, 2013).

2.2 Composição do ovo

O estágio embrionário das aves ocorre fora do organismo materno, dentro de um ovo, o qual deve possuir todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento e crescimento do embrião (UNI et al., 2003). Um ovo consiste em aproximadamente 58,5% de albúmen/clara, 31,0% de gema e 10,5% de casca (VIEIRA; MORAN JR., 1999). Os principais componentes são: água (75%), lipídeos (12%), proteínas (12%), além dos carboidratos, vitaminas e minerais (MAZZUCO, 2008).

A casca do ovo possui 94% de carbonato de cálcio, 1% de fosfato de cálcio, 4% de substâncias orgânicas e 1% de carbonato de magnésio (BROSTOW et al., 1999). Do total de minerais, 98% são constituídos por cálcio na forma de cristais. Outros componentes como o fósforo, magnésio, sódio, manganês, potássio, zinco, cobre e ferro estão presentes em pequenas quantidades. Durante a formação e a calcificação da casca do ovo ocorre a formação de poros, os quais são responsáveis pelas trocas gasosas de oxigênio, dióxido de carbono e pela troca de vapor de água, que ocorrem por difusão passiva, funcionando assim, como um mecanismo de comunicação entre o ovo e o meio externo (GONZÁLES, 2000).

A clara, também chamada de albúmen, contém 87% de água e 12% de proteínas, além de alguns minerais, vitaminas, glicose e lipídeos (ROMANOFF, 1967). As proteínas do albúmen apresentam uma grande diversidade, sendo as de maior abundância: a

ovoalbumina (54%), conalbumina, ovomucina, ovomucóide e lisozima. A ovoalbumina é uma fosfoglicoproteína com a função de inibição enzimática, sendo capaz de ligar-se a microminerais como o ferro, zinco, cobre, manganês, entre outros elementos (NISBET et al., 1981).

A gema é a fração mais rica do ovo, contém nutrientes essenciais como vitaminas solúveis em lipídios (A, D, E e K), proteínas, ácidos graxos, fosfolipídios, glicose e minerais (BERTECHINI, 2005). Os principais lipídios da gema são os triglicerídeos (63%), fosfolipídios (30%) e pequena quantidade de colesterol (5%) (DE BLAS; MATEOS, 1991). Entre os ácidos graxos que compõe a porção lipídica, 64% são insaturados (CLOSA, 1999). As proteínas da gema do ovo geralmente estão ligadas aos lipídios e são chamadas de lipoproteínas (KOVACS-NOLAN, 2005; RAMOS, 2008). Os carboidratos estão presentes de forma incipiente, ou seja, em não mais do que 1%, dos quais 0,3% é glicose livre (SUGINO et al., 1996).

No entanto, existem diversos fatores que podem modificar a composição do ovo e, conseqüentemente, interferem no desenvolvimento e crescimento dos pintinhos. Os embriões se desenvolvem com suporte dos nutrientes depositados no ovo, durante o processo em que passam pelo oviduto da galinha (ARAÚJO, 2010). Portanto, a composição do ovo está diretamente relacionada a questões como a idade, dieta das matrizes, linhagem, bem como o tempo de armazenagem e temperatura (RAMOS, 2008; ARAÚJO, 2010).

Por questões fisiológicas, matrizes mais velhas produzem ovos mais pesados, devido ao aumento na deposição de gema. Enquanto que matrizes no início de sua postura produzem ovos mais leves (ALMEIDA et al., 2008). Entretanto, aves mais velhas resultam em menor eclodibilidade, já que os embriões desenvolvidos em ovos maiores são menos tolerantes ao excesso de calor metabólico produzido no final do período de incubação (ROCHA, 2008), além de apresentarem albúmen menos denso e a casca menos espessa. Tais características levam a uma maior troca gasosa, perda de umidade e leva a uma alteração da constituição dos nutrientes no ovo (BRAKE et al., 1997).

De acordo com a composição da dieta das poedeiras pode ocorrer interferência na composição dos ovos como, por exemplo, a manipulação dos níveis proteicos e de aminoácidos da dieta, os quais podem alterar o tamanho dos ovos e a relação entre a gema e albúmen (PAVAN et al., 2005). Em estudo desses mesmos autores, houve aumento do peso dos ovos conforme adicionado maior quantidade de metionina e cistina na ração das

poedeiras. Resultado semelhante foi obtido por Domingues (2011), na qual as aves que receberam maiores níveis de lisina, metionina e cistina apresentaram ovos mais pesados.

A proporção de peso e composição do ovo não é a mesma entre as linhagens, devido à variação genética (RAMOS, 2008). Também ocorrem alterações na qualidade interna do ovo de acordo com o tempo de armazenamento e temperatura. Com o decorrer do tempo, o albúmen se torna mais claro, menos viscoso e apresenta aumento de pH. O aumento da temperatura acelera estas reações e, conseqüentemente, o peso do ovo diminui devido à perda de água e dióxido de carbono, levando ao aumento da câmara de ar (ROBERTS, 2004).

2.3 Utilização de nutrientes do ovo pelo embrião

O período de incubação é considerado importante na produção de frangos de corte, já que representa um terço do ciclo de vida desses animais quando se considera a idade de abate de 42 dias. Durante o desenvolvimento embrionário das aves, a energia utilizada pelo embrião advém principalmente dos lipídios presentes na gema e das proteínas presentes no albúmen (SANTOS et al., 2010), já que a glicose não é suficiente para suprir a demanda energética do embrião (SUGINO et al., 1996).

Os lipídios são degradados através de beta-oxidação e fosforilação oxidativa na presença de O₂, resultando em energia, CO₂ e água (BARBOSA, 2011). Já as proteínas presentes no albúmen são transferidas para o líquido amniótico por volta do 14° e 15° dias de incubação, devido à ruptura da membrana que separa o albúmen do fluido amniótico, causada pelo crescimento do embrião (EVERAERT; DECUYPERE, 2013). Quando o líquido amniótico é ingerido pelo embrião e, ao passar pelo trato gastrointestinal, as glicoproteínas do albúmen são parcialmente absorvidas (MURAMATSU, 1990). Essa absorção ocorre através dos enterócitos presentes no duodeno e jejuno (MORAN JÚNIOR, 2007), com a ajuda da ação de enzimas digestivas, secretadas pela endoderme do saco vitelínico. As enzimas extracelulares atuam sob o substrato, permitindo a absorção dos produtos da digestão, inclusive macromoléculas (NOY; SKLAN, 1998).

Nos últimos dias de incubação há grande demanda de energia pelo embrião para realizar a bicagem da casca. Devido ao aumento da taxa metabólica, ocorre diminuição da quantidade de oxigênio disponível e, conseqüentemente, redução do uso de lipídeos como fonte de energia (MORAN JÚNIOR, 2007). Nesse momento, o embrião aumenta o

catabolismo anaeróbico da glicose (OLIVEIRA et al., 2008) para suprir a demanda energética e a atividade muscular necessária para o processo de eclosão (FREEMAN; VINCE, 1974). Para manter a glicemia e aumentar as reservas glicogênicas embrionárias, o fígado realiza a gliconeogênese a partir de compostos gliconeogênicos, principalmente aminoácidos (SUNNY; BEQUETTE, 2010).

Após a eclosão, a glicemia é mantida a partir da quebra de glicogênio hepático e gliconeogênese a partir de aminoácidos, reduzindo a disponibilidade desses últimos para a síntese proteica no músculo. Como consequência, ocorre limitação do desempenho pós-eclosão. Dessa forma, o aumento da disponibilidade de carboidratos durante a incubação poderia poupar o uso de aminoácidos para obtenção de energia, diminuir a perda de peso pós-eclosão e aumentar a taxa de crescimento das aves (ZHAI et al., 2011).

O desenvolvimento do embrião é influenciado pela composição e utilização dos nutrientes contidos no ovo, mas também são necessárias condições ótimas de temperatura, umidade, viragem e oxigenação dos ovos durante a incubação para obter ótimo desenvolvimento e crescimento do embrião (SANTANA et al., 2014). A temperatura é um fator crítico no desenvolvimento e eclodibilidade dos embriões. Está diretamente relacionada com a taxa metabólica e a capacidade de perda de água do ovo (DECUYPERE et al., 2013). No período final da incubação, intensifica-se a perda de água devido à perda de calor por evaporação. Para que a temperatura do ovo seja adequada ao desenvolvimento do embrião, essa não deve ultrapassar 38,9°C no final da incubação (LOURENS et al., 2005). De acordo com Gonzáles e Cesário (2003), altas temperaturas aceleram a eclodibilidade, podem resultar em má formação, redução de peso corporal e mortalidade embrionária. Já em baixas temperaturas, retardam o crescimento e desenvolvimento dos órgãos.

Diferente da temperatura, a umidade pode variar sem que ocorram danos, mas deve ser mantida em uma amplitude de 50% a 60% (BOLELI, 2003). Durante o desenvolvimento, o embrião produz água, a qual deve ser perdida durante o processo de incubação para não acumular na câmara de ar, já que o embrião irá precisar da câmara de ar livre para iniciar a respiração pulmonar (MEIJERHOF, 2013). Segundo Barbosa et al. (2008) a umidade relativa do ar pode provocar efeitos na taxa de desempenho das aves, já que à medida que a umidade abaixa, o ovo perde peso. Nesse mesmo estudo, foi observado que com 64% de umidade os pintinhos obtiveram maior peso, independente da idade das matrizes.

A viragem dos ovos durante a incubação tem como objetivo reduzir o mau posicionamento embrionário, garantir a utilização adequada do albúmen e prevenir a adesão do embrião nas membranas da casca (WILSON, 1991). De acordo com Tona et al. (2003), a viragem do ovo influencia na taxa de eclodibilidade, qualidade do pintinho e na capacidade de crescimento da ave.

As trocas gasosas são feitas através dos poros da casca do ovo e devem manter-se com aproximadamente 21% de O₂ e 0,5% de CO₂ (DECUYPERE et al., 2013). A liberação de dióxido de carbono e captação de oxigênio é essencial para a eficiência das atividades metabólicas do embrião. O embrião começa a produzir calor metabólico por volta do 4º dia de incubação e o oxigênio presente sustenta a oxidação de ácidos graxos da gema (BARBOSA, 2011). No 9º dia, a temperatura do embrião é superior a da incubadora, devido ao calor metabólico produzido, sendo necessária a remoção deste calor através de uma eficiente ventilação (LOURENS, 2004). No entanto, no final do período de incubação, ocorre hipóxia devido à falta de oxigênio, o que estimula o embrião a realizar a bicagem interna e iniciar o processo de eclosão (MORAN JÚNIOR, 2007).

Portanto, esses fatores citados devem ser considerados para potencializar a técnica de nutrição *in ovo*, uma vez que influenciam o aproveitamento das substâncias presentes no ovo. Para um melhor desempenho pós-eclosão é necessário uma correta manipulação dos parâmetros de incubação.

2.4 Inoculação *in ovo* de nutrientes

A técnica de suplementação *in ovo* de nutrientes é considerada uma prática recente na ciência e na indústria avícola. Essa tecnologia consiste na administração de nutrientes exógenos para os pintinhos ainda na fase de desenvolvimento embrionário, ou seja, antes da eclosão (CAMPOS et al., 2010). O principal objetivo é melhorar a eclodibilidade e desempenho pós-eclosão das aves (SIWEK et al., 2018).

Em aves de rápido crescimento, os percentuais de nutrientes presentes no ovo podem não ser suficientes para o desenvolvimento embrionário, principalmente no terço final de incubação e logo após a eclosão (GONÇALVES et al., 2013). Na prática, aves provenientes de sistemas de incubação artificiais normalmente possuem elevado tempo de privação até a primeira alimentação, podendo chegar a 48 horas (HALEVY et al., 2000). Contudo, o acesso a nutrientes pode ocorrer ainda durante a fase embrionária, por meio da inoculação *in ovo* de nutrientes (GONÇALVES et al., 2013).

A inoculação *in ovo* de soluções contendo nutrientes e substâncias exógenas representa uma importante técnica para aumentar a disponibilidade de nutrientes ao embrião e, conseqüentemente, obter melhor desempenho das aves após a eclosão (LEITÃO et al., 2014). Vários nutrientes podem ser inoculados. Entretanto, as respostas positivas dependem de vários fatores, como o local da inoculação, fase de desenvolvimento do embrião, volume e osmolaridade da solução injetada, tipo de substâncias inoculadas e a composição da solução (FERKET et al, 2005). A falta de padronização das informações a respeito dos efeitos da inoculação de diversas substâncias vem impedindo o desenvolvimento e a implantação de tecnologias voltadas para a industrialização do processo de inoculação *in ovo* (GEYRA et al., 2001).

Um importante aspecto associado à aplicação da técnica de nutrição *in ovo* refere-se ao local da inoculação, o qual pode ser realizado no líquido amniótico, albúmen, alantóide, na câmara de ar ou no saco vitelínico (ROCHA; MAIORKA, 2013). Os resultados encontrados na literatura divergem quanto ao melhor local de inoculação e idade de incubação. Devido ao fato de o embrião consumir o líquido amniótico até o dia 18º de incubação, vários autores recomendam que nutrientes e moduladores entéricos sejam inoculados diretamente nesse meio e no final do período de incubação (UNI; FERKET, 2003; VIEIRA, 2005; MOGHADDAM et al., 2013; KANAGARAJU; RATHNAPRABA, 2019). No entanto, em outros estudos, a inoculação de carboidratos no albúmen resultou em melhora nos parâmetros de eclodibilidade e desempenho (SALMANZADEH et al., 2017a; 2017b).

Quanto ao volume ideal, depende dos nutrientes que compõem a solução a ser inoculada, mas normalmente são usados entre 0,5 e 1,0 mL (FERKET et al, 2005; UNI et al., 2005). Quantidades maiores podem prejudicar o desenvolvimento embrionário, por alterar a pressão interna do ovo. De acordo com Pedroso et al. (2006), a inoculação de volumes inferiores a 0,5 mL não influencia a mortalidade embrionária em relação ao controle.

A osmolaridade é outro fator importante. Segundo Uni e Ferket (2004), a osmolaridade não deve ultrapassar 800 mOsm. Ferket et al. (2005) recomendam que, para soluções a base de carboidratos, a osmolaridade deve estar entre 300 e 650 mOsm (FERKET et al., 2005). No entanto, os estudos apresentam níveis variando de 280 mOsm (ABOUSAAD et al., 2017a; 2017b) a 3.486 mOsm (PEDROSO et al., 2006). Porém, uma solução nutritiva em altas concentrações pode causar desequilíbrio osmótico resultando na morte ou surgimento de embriões deficientes (DAMASCENO). Por esse motivo, é

importante a mensuração da osmolaridade em estudos com nutrição *in ovo* para a interpretação dos resultados.

Vários nutrientes estão sendo utilizados na técnica de nutrição *in ovo*, com diferentes funções. Os carboidratos (SALMANZADEH et al., 2021a; KANAGARAJU; RATHNAPRABA, 2019) podem proporcionar às aves condições favoráveis para expressarem o potencial produtivo no período pós-eclosão. Sua inoculação *in ovo*, pode elevar as reservas de glicogênio e diminuir a degradação de proteínas musculares para obtenção de energia. Além disso, os carboidratos elevam as atividades das enzimas produzidas no intestino e aumentam a capacidade de digestão e de absorção dos nutrientes no intestino (TAKO et al., 2004).

Até o presente momento, é evidente que a técnica de nutrição *in ovo* possui vantagens reconhecidas. No entanto, ainda não se tem definido qual a melhor forma de aplicação, local e idade de inoculação, as dosagens que conferem melhores taxas de eclodibilidade e desempenho, entre outros aspectos que viabilizem a técnica em larga escala e que promova diminuição dos problemas relacionados à alimentação tardia pós-eclosão.

2.5 Inoculação *in ovo* de carboidratos

Os embriões apresentam rápido crescimento dentro do ovo, associado a uma alta demanda energética, principalmente na fase final de incubação. Entretanto, a quantidade de carboidratos presentes no ovo é muito baixa, sendo considerada insuficiente para atender a demanda metabólica do embrião. Dessa forma, os carboidratos vêm sendo utilizados em pesquisas sobre nutrição *in ovo* no sentido de melhorar o aproveitamento de outros nutrientes para o desenvolvimento embrionário (IPEK et al., 2004; ZHAI et al., 2011; ABDEL-HALIM et al., 2020).

Durante o processo de incubação, um dos principais objetivos do metabolismo é a manutenção dos níveis de glicose no organismo (NEVES et al., 2017). Durante a embriogênese, o fígado desempenha um papel importante na disponibilização de glicose aos tecidos através de precursores não carboidratos (gliconeogênese), síntese e degradação de glicogênio (glicogênese e glicogenólise, respectivamente) (CHRISTENSEN et al., 2001; UNI et al., 2005).

O fígado utiliza várias vias metabólicas para regular a quantidade de glicose no sangue. Uma delas é a gliconeogênese, que se inicia pela degradação dos aminoácidos

mobilizados do albúmen e líquido amniótico seguido pela degradação da proteína muscular (LILBURN, 1998). O processo de proteólise causa degradação da proteína, afetando de forma negativa o desenvolvimento do embrião (WILLEMS et al., 2014). Por essa razão, é possível que o desempenho dos pintinhos após a eclosão seja limitado pelo aporte reduzido de nutrientes para a síntese proteica. Assim, o fornecimento *in ovo* de carboidratos pode ser considerado uma técnica promissora devido ao seu efeito poupador de aminoácidos (RETES et al., 2018), resultando em pintinhos que nascem com maior peso (KORNASIO et al., 2011).

Um problema que compromete o desenvolvimento inicial pós-eclosão em frango de corte é a imaturidade fisiológica do trato digestório das aves nos primeiros dias de vida (NOY; UNI, 2010). Essa imaturidade representa menor absorção de nutrientes para o desenvolvimento do animal. Além disso, a presença de material não digerido no trato gastrointestinal após a alimentação exógena pode levar a colonização de patógenos e aumentar a incidência de diarreia e comprometimento do desempenho da ave (LAN et al., 2005).

Por outro lado, estudos mostram que o contato de nutrientes com a mucosa intestinal antes mesmo da eclosão pode melhorar a capacidade de digestão do embrião (UNI; FERKET, 2010; PESSÔA et al., 2012; LEITÃO et al., 2014), uma vez que estimulam o processo mitótico das criptas e vilosidades. Como consequência, ocorre aumento do número de células e do tamanho das vilosidades, aumentando assim a capacidade de digestão e absorção do órgão (MACARI; MAIORKA, 2000).

Portanto, várias substâncias estão sendo estudadas na técnica de nutrição *in ovo*. Dentre elas, os carboidratos, considerados importantes componentes principalmente para a fase final do desenvolvimento embrionário (UNI et al., 2005). Além de reduzir a necessidade de uso de aminoácidos para a manutenção da glicemia, também estão relacionados ao estímulo da atividade enzimática no intestino e do desenvolvimento precoce do trato gastrointestinal (NOY; UNI, 2010).

De acordo com Campos et al. (2011), a inoculação de 2,5% de glicose mais 3,0% de sacarose resulta em maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, entretanto, menor taxa de eclodibilidade e maior mortalidade foram observadas em relação ao tratamento com ovos intactos. Bhanja et al. (2014) ao inocularem 50 mg de solução contendo glicose, frutose e ribose no saco vitelínico aos 14 dias de incubação obtiveram melhor desempenho e imunidade em frangos de corte em relação ao tratamento com ovos intactos.

Palaniyandi et al. (2018) não observaram diferença significativa no ganho de peso após a eclosão, mas obtiveram maior eclodibilidade quando inocularam 50 mg de glicose no líquido amniótico no 18º dia de incubação. Maior ganho de peso e maior eclodibilidade foram observados quando 75 ou 100 mg de glicose foram inoculados no albúmen no 7º dia de incubação (SALMANZADEH et al., 2012b). Kanagarahu e Ratnaprabha (2019) obtiveram melhora na eclodibilidade e nos parâmetros de desempenho, ao inocular glicose no líquido amniótico aos 18 dias de incubação. Por sua vez, Pedroso et al. (2006) encontraram menor eclodibilidade quando inocularam 100 mg deste mesmo carboidrato no líquido amniótico no 16º dia de incubação. Leitão et al. (2008) não encontraram melhora ao inocular glicose (0,6 mL diluída em água) em ovos embrionados, nos parâmetros de incubação, peso ao nascer e desempenho na fase pré inicial de frango de corte. Em outros estudos, não houve diferença na eclosão ou no desempenho da ave (IPEK et al., 2004; ZHANG et al., 2016; ABDEL-HALIM et al., 2020).

Inconsistências também são observadas em estudos com dextrina. De acordo com Ghanaatparast-Rashti et al. (2017) e Zhai et al. (2011) houve redução da eclodibilidade ao inocularem dextrina diluída em solução salina no líquido amniótico aos 18 dias de incubação. Já em Abousaad et al. (2017a) apesar de diminuir a eclodibilidade, houve aumento do peso ao nascer após inoculação de dextrina, também aos 18 dias de incubação, diluída com solução salina.

Com a inoculação de maltose, resultados não significativos para os parâmetros de eclodibilidade e desempenho foram encontrados (SANTOS et al., 2010; MOHAMMED; AL-HASSANI, 2020). Já em estudo de Jia et al. (2011) houve menor eclodibilidade, no entanto, maior peso ao nascer com a inoculação de 100, 200 ou 300 mg de maltose. Mas a concentração de 400 mg de maltose reduziu a eclodibilidade e obteve alta taxa de mortalidade pós eclosão.

Fatores como tipo e quantidade de carboidrato inoculado, veículo, local de inoculação e idade embrionária de inoculação estão diretamente relacionados à discrepância nos resultados (TASHAROFI et al., 2018). Atualmente a nutrição *in ovo* é uma técnica com resultados promissores, que pode ajudar a diminuir os problemas da alimentação tardia após a eclosão. No entanto, devido aos resultados controversos, ainda não se sabe a melhor forma de se utilizar essa técnica.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao melhoramento genético, as atuais linhagens de frango de corte possuem maiores exigências metabólicas, maior demanda de energia e proteína, resultando em desbalanço entre exigências e reservas armazenadas no ovo. A técnica de nutrição *in ovo* visa disponibilizar nutrientes para o embrião, principalmente glicose, evitando a gliconeogênese de proteínas endógenas, na expectativa de melhorar o desenvolvimento e crescimento do embrião e pós-eclosão. Além disso, estimula o desenvolvimento precoce do trato gastrointestinal e, conseqüentemente, aumenta a capacidade de digestão e absorção dos nutrientes.

Apesar de ser uma técnica promissora, a nutrição *in ovo* ainda não encontrou aplicação avícola comercial. Questões como a padronização e eficiência do método, resultados na eclodibilidade e desempenho após a inoculação e benefícios nos índices produtivos necessitam ser esclarecidas. Assim, a definição de qual carboidrato e qual técnica proporcionam melhores resultados são importantes para consolidar a nutrição *in ovo* como uma técnica capaz de melhorar as taxas de produção em aves.

4. REFERÊNCIAS

ABDEL-HALIM, A., MOHAMED, F.R., ELMENAWAY, M.A., GHARIB, H.B. Impact of *in ovo* injection of folic acid and glucose on hatchability and posthatching performance of broiler chickens. **Journal of Veterinary**, v. 10, p. 481-491, 2020.

ABOUSAAD, S., LASSITER, K., PIEKARSKI, A., CHARY, P., STRIPLIN, K., CHRISTENSEN, K., BIELKE, L.R., HARGIS, B.M., DRIDI, S., BOTTJE, W.G. Effects of *in ovo* feeding of dextrin-iodinated casein in broilers: I. Hatch weights and early growth performance. **Journal of Poultry Science**, v. 96, p. 1473-1477, 2017 (a).

ABOUSAAD, S., LASSITER, K., PIEKARSKI, A., CHARY, P., STRIPLIN, K., CHRISTENSEN, K., BIELKE, L.R., HARGIS, B.M., DRIDI, S., BOTTJE, W.G. Effect of *in ovo* feeding of dextrin-iodinated casein in broilers: II. Hatch window and growth performance. **Journal of Poultry Science**, v. 96, p. 1478-1484, 2017 (b).

ALCROFT, W. M. Incubation and hatchery practice. London: **Her Majesty's Stationary Office**, p. 71, 1964.

ALMEIDA, J.G., DAHLKE, F., MAIORKA, A., FARIA FILHO, D.E., OELKE, C.A. Efeito da idade da matriz no tempo de eclosão, tempo de permanência do neonato no nascedouro e o peso do pintainho. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.1, p. 45-49, 2008.

ARAÚJO, L.F., KIDD, M.T., ARAÚJO, C.S.S., BARBOSA, L.C.G.S. Impacto da nutrição de matrizes pesadas sobre o desenvolvimento da progênie. **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, CBNA, Campinas, Anais, p. 24-33, 2010.

BARBOSA, V.M., CANÇADO, S.V., BAIÃO, N.C., LANA, A.M.Q., LARA, L.J.C., SOUZA, M.R. Efeitos da umidade relativa do ar na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 741-748, 2008.

BARBOSA, V.M. Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. FEP/MVZ, **UFMG**. Belo Horizonte, 2011.

BELUSSO, D., HESPANHOL, A.N. A evolução da avicultura industrial brasileira e seus efeitos territoriais. **Revista Percursos - NEMO**, v. 2, n. 1, p. 25-51, 2010.

BERTECHINI, A.G. Mitos e verdades sobre o ovo de consumo. **In: Conferência APINCO**, 19. 2003.

BHANJA, S.K., GOEL, A., PANDEY, N., MEHRA, M., MAJUMDAR, S., MANDAL, A. B. In ovo carbohydrate supplementation modulates growth and immunity-related genes in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 163-173, 2014.

BOHORQUEZ, D. V. Nutritional influences on the ultra-structural development of the small intestinal epithelium of the perinatal turkey embryo and poultry. **Dissertation** (Ph.D. of Philosophy) - North Carolina State University, Raleigh, p. 185, 2010.

BOLELI, I.C. Estresse, mortalidade e malformações embrionárias. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, Cap. 4.4, p. 394-434, 2003.

BRAKE, J., WALSH, T.J., BENTON, C.E., PETITTE JR, J.N., MEIHERHOF, R., PENALVA, G. Egg handling and storage. **Journal of Poultry Science**, v.76, p.144-151, 1997.

BROSTOW, W., RIVERA, E.M., ARAIZA, M., CASTANO, V.M., DÍAZ-ESTRADA, J.R., HERNANDEZ, R., RODRIGUEZ, J.R. Synthesis of hydroxy apatite from eggshells. **Materials Letters**, v. 41, p. 128-134, 1999.

CAMPOS, A.M.A., GOMES, P.C., ROSTAGNO, H.S. Nutrição **in ovo** de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, p. 1304-1313, 2010.

CAMPOS, A.M.A., ROSTAGNO, H.S., GOMES, P.C., DA SILVA, E.A., ALBINO, L.F.T., NOGUEIRA, E.T. Efeito da inoculação de soluções nutritivas *in ovo* sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, p. 1712-1717, 2011.

CESARIO, M. D. Desenvolvimento embrionário pré e pós-postura - períodos críticos. In: MACARI et al. **Manejo da incubação**. FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, 3.ed., Jaboticabal, 2013, cap.1.3, p. 47-63.

CHRISTENSEN, V.L., WINELAND, M.J., FASENKO, G.M., DONALDSON, W.E. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. **Journal of Poultry Science**, v. 80, n. 12, p. 1729-1735, 2001.

CLOSA, S.J., MARCHESICH, C., CABRERA, M., MORALES, J.C.M. Composición de huevos de gallina y codorniz. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, v. 49, 1999.

DAMASCENO, J.L., CRUZ, F.G.G., MELO, R.D., FEIJO, J.C., RUFINO, J.P.F., VALENTIM, F.M., OLIVEIRA, J.P.C. Inoculação de proteína isolada de soja em ovos embrionados oriundos de matrizes semipesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, p. 1259-1266, 2017.

DAVIS, C., REEVES, R. High Value Opportunities from The Chicken Egg. A report for the **Rural Industries Research and Development Corporation**. RIRDC Publication, 2002.

DE BLAS, C., MATEOS, G.G. Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras. Ed. **Mundi-Prensa**, Madri, 1991.

DECUYPERE, E. Desafios do processo de incubação. In: MACARI et al. **Manejo da 7 incubação**. FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, 3 ed. 8 Jaboticabal, cap. 2, p. 299- 320, 2013.

DEEMING, D.C. Avian incubation: behaviour, environment, and evolution. **Lincoln: Oxford University Press**, p. 440, 2002.

DOMINGUES, C. H. F. Lisina e metionina + cistina digestíveis para poedeiras no período pós muda. **Dissertação** (Mestre em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

EVERAERT, N., DECUYPERE, E. Fisiologia do embrião. **In**: MACARI. Manejo da incubação. FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, 3ed., Jaboticabal, p. 31- 46, 2013.

FERKET, P, DE OLIVEIRA, J., GHANE, A., UNI, Z. Effect of *in ovo* feeding solution osmolality on hatching turkeys. **Journal of Poultry Science**, v. 84, p. 118, 2005.

FERKET, P.; UNI, Z. 2006. Early feeding - in ovo feeding enhances of early gut development and digestive capacity of poultry. In: **Conference European Poultry**, Verona. Anais... Verona: Conference European Poultry, (CD-ROM), 2006.

FIUZA, M.A., LARA, L.J.C., AGUILAR, C.A.L., RIBEIRO, B.R.C., BAIÃO, N.C. Efeito das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos

de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 408-413, 2006.

FOYE, O., FERKET, P., UNI, Z. The effects of in ovo feeding of arginine and/or betahydroxy beta-methylbutyrate (HMB) on glycogen metabolism and growth in turkey poult. **Journal of Poultry Science**, v. 9, 2005.

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

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 & Biotechnology**, Cairo, v. 201, p. 1-12, 2010.

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

GHANAATPARAST-RASHTI, M., MOTTAGHITALAB, M., AHMADI, H. *In ovo* feeding of beta-hydroxy beta-methylbutyrate and dextrin optimized growth performance of broiler for pre-placement holding time using the Box-Behnken response surface design. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p. 1543-1552, 2017.

GONÇALVES, F.M., SANTOS, V.L., CONTREIRA, C.L., FARINA, G., KREUZ, B. S., GENTILINI, F.P., ANCIUTI, M.A., RUTZ, F. Nutrição *in ovo*: estratégia para nutrição de precisão em sistemas de produção avícola. **Arquivo de Zootecnia**, v. 62, 45-55, 2013.

GONZALEZ, J.M., JACKSON, A. R. In ovo feeding of nicotinamide riboside affects broiler pectoralis major muscle development. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 3, p. 126, 2020.

GONZALES, E., LEANDRO, N.S.M., VAROLI, JR.J.C., TAKITA, T.S., LODDI, M.M. Tempo jejum do neonato e a restrição alimentar precoce influenciando a produtividade de frangos de corte na idade de abate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, p. 4, 2000.

HALEVY, O., GEYRA, A., BARAK, M., UNI, Z., SKLAN, D. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 858-864, 2000.

IPEK, A., SAHAN, U., YILMAZ, B. The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. **Archive für Geflügelkunde**, v. 68, p. 132-135, 2004.

JIA, C.L., WEI, Z.H., YU, W., WANG, X.Q., YU, F. Effect of in-ovo feeding maltose on the embryo growth and intestine development of broiler chicken. **Indian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 503-506, 2011.

KANAGARAJU, P., RATHNAPRABA, S. Effect of in-ovo injection of glucose and egg white protein on the production performance and gut histomorphometry of broiler chicken. **Indian Journal of Animal Research**, v. 53, p. 675-679, 2019.

KORNASIO, R., HALEVY, O., KEDAR, O., UNI, Z., Effect of *in ovo* feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. **Journal of Poultry Science**, v. 90, p. 1467-1477, 2011.

LAN, Y., VERSTEGEN, M.W.A., TAMMINGA, S., WILLIAMS, B.A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, v. 61, n. 1, p. 95-104, 2005.

LEITÃO, R.A., LEANDRO, N.S.M., PEDROSO, A.A., STRINGHINI, J.H., OLIVEIRA NETO, G.R., CAFÉ, M.B. Efeito da suplementação de glicose in ovo sobre o desempenho inicial de pintos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, p. 69, 2005.

LEITÃO, R. A. Inoculação de glicose em ovos embrionados de frango de corte : 31 parâmetros de incubação e desempenho inicial. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 32 4, p. 847-855, 2008.

LEITÃO, R.A., LEANDRO, N.S.M., STRINGHINI, J.H., CAFÉ, M.B., MATOS, M.S., ANDRADE, M.A. Inoculação de maltose e/ou sacarose em ovos leves embrionados. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, p. 55-63, 2014.

LILBURN, M.S. Practical aspects of early nutrition in poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 7, p. 420-424, 1998.

LOPEZ, D.T.B., TOVAR, J., URIARTE, S., ALDAZABAL, P. The nutrition of the fetus with intestinal atresia: studies in the chick embryo model. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 27, p. 1325-1328, 1992.

LOURENS, A. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo 44 development, hatchability and post-hatch development. **Journal of Poultry Science**, v. 84, p.914-920, 2005.

MACARI, M., MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, v. 2, p. 455-457, 2000.

MAIORKA, A., ROCHA, C. Dietas iniciais, desenvolvimento do trato gastrointestinal e impacto sobre o desempenho de frango de corte. In:INTESTINAL HEALTH FOOD SAFETY SEMINAR, 5., 2009. **Anais...**[S.l.], 2009.

MAZZUCO, H. Ovo: alimento funcional, perfeito à saúde. **Avicultura Industrial**, v. 99, p.12-16, 2008.

MEIJERHOF, R. Temperatura nas fases iniciais da incubação. . In: MACARI et al. 5 **Manejo da incubação**. FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, 3 6 ed., Jaboticabal, 2013, cap. 2.11, p. 273-282.

MOGHADDAM, A., KARIMI, I., BORJI, M., BAHADORI, S., ABDOLMOHAMMADI, A. Effect of royal jelly in ovo injection on embryonic growth, 20 hatchability, and gonadotropin levels of puller breeder chicks. **Theriogenology**, v. 21, p. 193-198, 2013.

MOHAMMED, R.J., AL-HASSANI, D.H. The effect of early feeding by *in ovo* injection and post hatch in hatchery on some hatching traits, liver glycogen and duodenal villi of broiler chickens. **Biochem. Cell. Archive**, v. 20, p. 4003-4007, 2020.

MORAN JÚNIOR, E.T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. **Journal of Poultry Science**, Champaign, v. 86, p. 1043-1049, 2007.

MURAROLLI, V.D.A. Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte. **Dissertação** (Mestrado em nutrição e produção animal), USP, São Paulo, p. 101, 2008.

MURAMATSU, T. Importance of albumen content in whole- body protein synthesis of the chicken embryo during incubation. **British Poultry Science**, London, v. 31, p. 101-106, 1990.

NEVES, D.G., RETES, P.L., ROCHA, R.R., FERREIRA, L.G., NAVES, L.P., ALVARENGA, R.R., FASSANI, E.J., PEREIRA, L.J., SOUSA, R.V., ZANGERONIMO, M.G. Effects of in ovo feeding with glycerol for broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n. 3, p. 434–440, 2017.

NISBET, A.D.R.H., SAUNDRY, A.J.G., MOIR, L.A., FOTHERGILL, J.E., FOTHERGILL. The complete aminoacid sequence of hen albumin. **European Journal of Biochemistry**, v. 115, p. 335-345, 1981.

NOY, Y., GEYRA, A., SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Journal of Poultry Science**, v. 80, p. 912-919, 2001.

NOY, Y.; SKLAN, D. Metabolic Responses to Early Nutrition. **Journal Applied Poultry Research**, v. 7, p. 437-451, 1998.

NOY, Y., UNI, Z. Early nutritional strategies. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, n. 4, p. 639-646, 2010.

OLIVEIRA, J. E. de; UNI, Z.; FERKET, P. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. **World's Poultry Science Journal**, v.64, n. 4, p. 488-499, 2008.

PALANIYANDI, K., MANNU, B., SHUNMUGAN, R., SAMBANDAM, R., HARISHCHANDRA, S.S. Effect of In-ovo injection of Glucose, Lysine, Threonine and β -hydroxy- β - methylbutarate (HMB) on the Morphometry of Digestive Organs in Commercial **Broilers Livest. Science**, v. 8, p. 117-183, 2018.

PAVAN, A.C., MÓRI, C., GARCIA, E.A. Níveis de proteína bruta e de aminoácidos sulfurosos totais sobre o desempenho, a qualidade dos ovos e a excreção de nitrogênio de poedeiras de ovos marrons. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 568-57, 2005.

PEDROSO, A.A., CHAVES, L.S., LOPES, K.L.A.M. Inoculação de nutrientes em ovos de matrizes pesadas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 35, p. 2018-2026, 2006.

PESSÔA, G.B.S., TAVERNARI, F.C., VIEIRA, R.A., ALBINO, L.F.T. Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, 2012.

RAMOS, B.F.S. Gema de ovo composição em aminas biogénicas e influência da gema na fração volátil de creme de pasteleiro. **Dissertação** (Mestrado em Controle de Qualidade). Universidade do Porto, 2008.

RETES, P.L., CLEMENTE, A.H.S., NEVES, D.G., ESPÓSITO, M., MAKIYAMA, L., ALVARENGA, R.R., PEREIRA, L.J., ZANGERONIMO, M.G. In ovo feeding of carbohydrates for broilers-a systematic review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 2, p. 361-369, 2018.

ROBERTS, J.R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. *Journal of Poultry Science*, v. 4, n. 1, p. 161-177, 2004.

ROCHA, J.S.R., LARA, L.J.C., BAIÃO, N.C., CANÇADO, S.V., BAIÃO, L.E.C., SILVA, T.R. Efeito da classificação dos ovos sobre o rendimento de incubação e os pesos do pinto e do saco vitelino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.979-986, 2008.

ROCHA, C., MAIORKA, A. Nutrição in ovo. In: MACARI et al. Manejo da incubação. **FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas**. 3.ed., Jaboticabal, v. 38 cap.2.9, p.223-243, 2013.

ROMANOFF, A. L. The avian embryo. **The Macmillan**: New York, p. 1305, 1960.

ROMANOFF, A. L. Biochemistry of the Avian Embryo. **Wiley Interscience Publisher**, v. 45, New York, 1967.

SALMANZADEH, M. The Effects of In-Ovo Injection of Glucose on Hatchability, Hatching Weight and Subsequent Performance of Newly-Hatched Chicks. **Journal of Poultry Science**, v. 14, p. 71-158, 2012 (a).

SALMANZADEH, M., EBRAHIMNEZHAD, Y., AGHDAM SHAHRYAR, H., BEHESHTI, R. 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. **Archive Geflügel**, v.76, p. 277-284, 2012 (b).

SANTANA, M.H.M., GIVISIEZ, P.E.N., FIGUEIREDO JÚNIOR, J.P., SANTOS, E.G. Incubação: principais parâmetros que interferem no desenvolvimento embrionário de aves. **Revista eletrônica nutritime**, Artigo 245, 2 v.11, n.02, p. 3387-3398, 2014.

SANTOS, T.T., CORZO, A., KIDD, M.T., MCDANIEL, C.D., TORRES FILHO, R.A., ARAÚJO, L.F. Influence of *in ovo* inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, p. 1-12, 2010.

SIWEK, M., SLAWINSKA, A., STADNICKA, K., BOGUCKA, J., DUNISLAWSKA, A., BEDNARCZYK, M. Probiotics and synbiotics - *in ovo* delivery for improved lifespan condition in chicken. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, 2018.

STURKIE, P. D. *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. **Academic**, London, p. 704, 1998.

SUGINO, H., NITODA, T., JUNEJA, L.R. General chemical composition of hen eggs. In: YAMAMOTO, T. et al. (Ed.). **Heneggs their basic and applied science**, p. 13-24, 1996.

SUNNY, N.E., BEQUETTE, B.J. Glycerol is a major substrate for glucose, glycogen, and nonessential amino acid synthesis in late-term chicken embryos. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3945-3953, 2011.

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

TASHAROFI, S., MOHAMMAD, F., AMIRI, N., NAZEM, M.N. Effects of intra-yolk-sac injection of dextrose and albumin on performance, jejunum morphology, liver and pectoral muscle glycogen and some serum metabolites of broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p. 917-923, 2018.

TONA, K., ONAGBESAN, O., DE KETELAERE, B., DECUYPERE, E., BRUGGEMAN, V. Effects of Turning Duration During Incubation on Corticosterone and Thyroid Hormone Levels, Gas Pressures in Air Cell, Chick Quality and Juvenile Growth. **Journal of Poultry Science**, v. 82, p. 1974-1979, 2003.

TULLET, S. G. Science and art of incubation. **Journal of Poultry Science**, v. 69, p. 1-15, 1990.

UNI, Z. Methods for early nutrition and their potential. In: European Symposium of Poultry Nutrition: **World Poultry Science Association**, p. 254-260, 2003.

UNI, Z., FERKET, R.P., TAKO, E., KEDAR, O. *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. **Journal of Poultry Science**, v. 84, p. 764-770, 2005.

UNI, Z., FERKET, P.R. Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding. US Regular Patent. **Research and Development Solutions**, v. 6, n. 592, p. 878, 2003.

UNI, Z., FERKET, P. R. Methods for early nutrition and their potential. **Journal of Poultry Science**, v. 60, p. 101-111, 2004.

UNI, Z., YADGARY, L., RONI, Y. Nutritional limitations during poultry embryonic development. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 1, p. 175-184, 2012.

VIEIRA, S.L., MORAN, J.R. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **Journal of Poultry Science**, v. 55, p. 125-142, 1999.

VIEIRA, S. L. Nutrição do embrião. **Ave World**, v. 18, p. 66-71, 2005.

WILLEMS, E., HU, T.T., SOLER VASCO, L., BUYSE, J., DECUYPERE, E., ARCKENS, L., EVERAERT, N. Embryonic protein undernutrition by albumen removal programs the hepatic amino acid and glucose metabolism during the perinatal period in an avian model. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

WILSON, H.R. Physiological Requirements of the Developing Embryo: Temperature and Turning. In: Avian Incubation. **Poultry Science Symposium**, v. 22, p.145-156, 1991.

ZHAI, W., ROWE, D.E., PEEBLES, E.D. Effects of commercial in ovo injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. **Journal of Poultry Science**, v.122, p. 1295-1301, 2011.

ZHANG, L., ZHU, X.D., WANG, X.F., LI, J.L., GAO, F., ZHOU, G.H. Individual and combined effects of in-ovo injection of creatine monohydrate and glucose on somatic characteristics, energy status, and posthatch performance of broiler embryos and hatchlings. **Journal of Poultry Science**, v. 95, p. 2352-2359, 2016.

SEGUNDA PARTE

De acordo com as normas da *Animal Feed Science and Technology*

ARTIGO 1: NUTRIÇÃO *IN OVO* COM CARBOIDRATOS PARA FRANGOS DE CORTE: UMA METANÁLISE

RESUMO

O objetivo desta metanálise foi avaliar o efeito da inoculação de carboidratos em ovos fertilizados nas características de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte. A busca de artigos científicos foi realizada em setembro de 2021 em diferentes bases de dados, utilizando as palavras-chave *carbohydrate AND "in ovo"*. Foram utilizados apenas artigos que avaliaram o efeito da inoculação *in ovo* de carboidratos nos parâmetros de eclosão (eclodibilidade e peso ao nascimento) e/ou pós-eclosão (desempenho) em frangos de corte. A metanálise foi realizada por meio do modelo de efeitos aleatórios, considerando as diferenças entre o grupo inoculado com carboidrato e o controle placebo. A maioria dos carboidratos, com exceção da dextrina e da maltose, reduziu ($P < 0,05$) a eclodibilidade. Com exceção da dextrina, todos aumentaram ($P < 0,05$) o peso ao nascimento. O ganho de peso após a eclosão melhorou ($P < 0,05$) com dextrina e com glicose e o consumo de ração aumentou ($P < 0,05$) com inoculação de glicose. A inoculação no líquido amniótico aumentou ($P < 0,05$) o ganho de peso e reduziu ($P < 0,05$) a conversão alimentar, porém diminuiu ($P < 0,05$) a eclodibilidade, bem como a inoculação na câmara de ar e na gema. A inoculação no albúmen aumentou ($P < 0,05$) o peso ao nascer e o ganho de peso e reduziu ($P < 0,05$) a conversão alimentar. A inoculação das soluções entre o 7º e o 10º dia de incubação, utilizando água deionizada como veículo, melhorou ($P < 0,05$) todos os parâmetros de desempenho, sem influenciar ($P > 0,05$) a eclodibilidade. Conclui-se que a inoculação *in ovo* com carboidratos pode ser utilizada para melhorar o desempenho de frangos de corte, sendo a dextrina o carboidrato mais adequado, seguida da glicose e da maltose. Água deionizada deve ser utilizada como veículo de diluição, sendo o albúmen o local recomendado para a inoculação. As soluções devem ser inoculadas entre o 7º e o 10º dia de incubação.

Palavras chave: frango de corte, eclodibilidade, incubadoras, nutrição *in ovo*, desempenho.

Introdução

A avicultura é um dos principais segmentos da produção animal e vem crescendo ano após ano em consonância com o aumento da população humana mundial (USDA, 2021). Uma das maneiras de aumentar a eficiência da produção é melhorar a eclodibilidade e o desempenho das aves após a eclosão. É nesse sentido que muitas pesquisas surgem com o objetivo de otimizar ou maximizar os sistemas de produção avícola. Uma das principais linhas de pesquisa é a nutrição *in ovo*, ou seja, o fornecimento de nutrientes às aves durante o período embrionário (Willemsen et al., 2010). O principal objetivo desta tecnologia é produzir um maior número de pintos mais bem preparados para os desafios dos primeiros dias de criação (Uni e Ferket, 2004).

O melhoramento genético, associado a novas técnicas de criação, fez com que as aves apresentassem maior potencial de crescimento. Dessa forma, há necessidade de uma quantidade maior de nutrientes presentes no ovo capaz de garantir o desenvolvimento embrionário adequado e a sobrevivência das aves nos primeiros dias após a eclosão. Sabe-se que ao final do período de incubação o embrião necessita de glicose como fonte de energia para completar o processo de incubação (Neves et al., 2017). Essa glicose vem principalmente dos estoques de glicogênio do fígado (glicogenólise) e dos estoques de aminoácidos (gliconeogênese) dos embriões (Uni et al., 2005). Por causa disso, é possível que o desempenho dos pintinhos após a eclosão seja limitado devido ao menor aporte de nutrientes para a síntese de proteínas. Assim, o fornecimento *in ovo* de carboidratos pode ser considerado uma técnica promissora devido ao seu efeito poupador de aminoácidos (Retes et al., 2018).

No entanto, resultados inconsistentes são encontrados na literatura. Palaniyandi et al. (2018) não observaram diferença significativa no ganho de peso após a eclosão, mas obtiveram maior eclodibilidade quando inocularam 50 mg de glicose no líquido amniótico no 18º dia de incubação. Maior ganho de peso e maior eclodibilidade foram observados quando 75 ou 100 mg de glicose foram inoculados no albúmen no 7º dia de incubação (Salmanzadeh et al., 2012b). Por outro lado, Pedroso et al. (2006) encontraram menor eclodibilidade quando inocularam 100 mg deste mesmo carboidrato no líquido amniótico no 16º dia de incubação. Inconsistências também são observadas com dextrina (Abousaad et al., 2017a; Ghanaatparast-Rashti et al., 2017) e maltose (Jia et al., 2011; Mohammed e Al-Hassani; 2020).

Fatores como tipo e quantidade de carboidrato inoculado, veículo, local e idade embrionária de inoculação estão diretamente relacionados à discrepância nos resultados

(Tasharofi et al., 2018). Assim, a definição de qual carboidrato e qual técnica proporcionam melhores resultados são importantes para consolidar a nutrição *in ovo* como uma técnica capaz de melhorar as taxas de produção em aves. Com isso, o objetivo do presente estudo foi verificar, por meio de metanálise, se a inoculação *in ovo* de carboidratos é capaz de melhorar a eclodibilidade, peso ao nascimento e desempenho pós-nascimento de frangos de corte e também indicar a metodologia mais adequada para o uso desses nutrientes em frangos de corte.

Material e métodos

Estratégias de busca

Em setembro de 2021, foi realizada uma busca eletrônica nas seguintes bases de dados: Embase (<https://embase.com/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com.br/>), Scielo (<https://scielo.org/>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Periódicos Capes (<https://www.periodicos.capes.gov.br/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Web of Science (<http://isiknowledge.com/>). A seguinte combinação de palavras-chave foi usada: [*carbohydrate AND "in ovo"*]. No início, nenhum filtro foi aplicado. Porém, devido ao grande número de estudos retornados em algumas bases, a busca por termos presentes apenas no título foi feita no Google Scholar, enquanto no Science Direct e no Scopus apenas o termo “in ovo” ficou restrito ao “título, resumo e palavras-chave”. Dessa forma, um total de 872 artigos foi retornado.

Seleção dos artigos

Todos os estudos foram importados para EndNote[®] - X9 (Clarivate Analytics - Philadelphia, USA, 2018). Em seguida, foram excluídos os duplicados e os estudos que não possuíam caráter experimental. A questão PICO foi definida para comparar ovos fertilizados de frangos de corte (População) que foram inoculados com carboidratos (Intervenção) em comparação com a solução de placebo (Controle), com o resultado sendo eclodibilidade, peso na eclosão, ganho de peso, ingestão de ração e taxa de conversão alimentar (Resultado). Assim, com base nas informações contidas no título e no resumo, foram selecionados apenas estudos que avaliaram os efeitos da inoculação de carboidratos em ovos fertilizados de frangos de corte sobre a eclodibilidade, peso na eclosão, ganho de peso, consumo de ração e taxa de conversão alimentar. Não houve restrições quanto à data e idioma de publicação. Após a busca e seleção, 21 estudos foram

eleitos. Após buscas nas referências desses estudos, nenhum outro artigo foi adicionado. O fluxograma de seleção foi preparado seguindo as recomendações dos Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Metanálises (PRISMA). A Tabela 1 contém as principais características dos artigos selecionados.

Critérios de qualidade

Após a caracterização dos estudos, foi realizada uma análise da qualidade das evidências. Os itens pontuados foram estabelecidos de acordo com critérios adaptados da revisão sistemática de Retes et al. (2018).

- 1) Tamanho da amostra: estudos que utilizaram mais de 100 ovos por tratamento receberam 2 pontos e quando o número de ovos foi menor que 100 ou quando esse fato não foi claramente descrito no texto, receberam 1 ponto.
- 2) Randomização: estudos que demonstraram randomização receberam 2 pontos e aqueles que não foram randomizados, ou a randomização não estava claramente no texto, 1 ponto.
- 3) Volume inoculado: estudos que mencionaram o volume inoculado receberam 2 pontos, e quando esse fato não foi relatado ou não estava claramente no texto, 1 ponto.
- 4) Veículo de diluição utilizado: estudos que detalhavam o diluente utilizado recebiam 2 pontos e quando esse fato não era relatado ou não estava claramente no texto, 1 ponto.
- 5) Local de inoculação: estudos que mencionavam o local de inoculação recebiam 2 pontos e quando esse fato não era relatado ou não era claro, 1 ponto.
- 6) Idade do embrião: estudos que mencionavam a idade do embrião no momento da inoculação recebiam 2 pontos e quando este fato não era relatado ou não era claro, 1 ponto.
- 7) Idade da matriz: os estudos que caracterizavam a idade das matrizes recebiam 2 pontos e quando este fato não era evidenciado ou não estava claramente evidenciado, 1 ponto.
- 8) Peso do ovo: os estudos que demonstraram o peso do ovo no início da incubação receberam 2 pontos e os que não descreveram receberam 1 ponto.
- 9) Linhagem das aves: os estudos que descreveram a linhagem receberam 2 pontos e os que não relataram essa informação receberam 1 ponto.

10) Condições de incubação: os estudos que relataram a temperatura e a umidade durante a incubação receberam 2 pontos e os que não relataram receberam 1 ponto.

A pontuação máxima que um estudo poderia receber era 20 e no mínimo 10 pontos, como demonstrado na Tabela 2. Com base na pontuação, os estudos foram classificados em 3 categorias. Os estudos que pontuaram 17 ou mais foram classificados como de alta qualidade metodológica; estudos que pontuaram entre 13 e 16 pontos como qualidade metodológica intermediária e entre 10 e 12 pontos como qualidade metodológica inferior.

Metanálise

As informações necessárias ao banco de dados foram obtidas nas seções de materiais e métodos e resultados dos estudos selecionados. A eclodibilidade, o peso na eclosão, o ganho de peso, o consumo de ração e a taxa de conversão alimentar foram extraídos. A metodologia aplicada para a construção do banco de dados seguiu o modelo descrito na literatura (Sauvant et al., 2008).

Os grupos comparados foram o grupo controle (ovos inoculados apenas com o veículo - placebo) e o grupo inoculado com carboidratos. Para estudos com dois ou mais grupos tratados (por exemplo, diferentes tipos ou quantidades de carboidratos inoculados), mais de uma comparação foi registrada. Em cada comparação, foi selecionado o tamanho da amostra (n), a média e o erro padrão (SE). Nos casos em que os valores SE não estavam disponíveis, o desvio padrão (SD) foi usado para a estimativa, usando a equação $SE = SD \times \sqrt{n}$, onde n = número de repetições, ou o coeficiente de variação (CV), usando a equação $SE = (CV \times \text{média}) / (\sqrt{n} \times 100)$. Nos casos em que o desvio padrão ou coeficiente de variação também foi omitido, foi utilizada a média do SE dos demais estudos (Idris e Robertson, 2009).

As informações extraídas dos estudos foram registradas como dados brutos (conforme apresentado nos artigos originais), exceto para ganho de peso e consumo de ração, cujos valores foram padronizados em g/dia. Três categorias foram utilizadas para avaliar o número de ovos por tratamento (estudos que usaram entre 25 e 50 ovos, estudos que usaram entre 51 e 100 ovos e estudos que usaram mais de 100 ovos por tratamento), a idade de inoculação (inoculados entre o 7º e o 10º dia e estudos que inocularam entre 15º ao 18º dia) e qualidade da evidência (alta evidência - estudos que receberam entre 17 e 20 pontos nos critérios de qualidade; evidência moderada - estudos que receberam entre 13 e 16 pontos e baixa evidência - estudos que receberam entre 10 e 12 pontos). Os

critérios de avaliação das evidências foram estabelecidos conforme sugerido pelo sistema GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluations*).

Os dados foram analisados usando o software STATA 16 (*Stata Corp, College Station Tex*). A diferença média padrão (SMD) entre o grupo inoculado com carboidratos e o grupo controle foi considerada na análise. O teste Q e a medida de inconsistência (I^2) foram utilizados para avaliar a presença e o grau de heterogeneidade, respectivamente. Na existência de heterogeneidade ($P < 0,05$), foi utilizado o modelo de efeito aleatório para o cálculo do SMD, sendo 95% do intervalo de confiança ($IC_{95\%}$) apresentado nos *Forest Plots*. Os dados foram então particionados em subanálises e submetidos à metarregressão de acordo com as seguintes variáveis explicativas: classificação do artigo segundo critérios de qualidade de evidência (evidência alta, intermediária e baixa); tipo de carboidrato inoculado; linhagem; idade embrionária no momento da inoculação; veículo de solução; local de inoculação dos ovos; número de ovos por tratamento; idade das aves em que o desempenho foi avaliado e o gênero das aves avaliadas. O viés de publicação foi avaliado usando o *Funnel Plot* e os testes de Egger e de Begg.

Resultados

Características dos estudos selecionados

Um total de 21 artigos foram selecionados e considerados nesta metanálise (Tabela 1). A glicose isolada foi o principal carboidrato avaliado (12 estudos), seguida pela dextrina (3 estudos) e maltose (2 estudos). Em quatro estudos, as combinações de mais de um carboidrato foram avaliadas. Em todos os artigos, o peso ao nascimento foi relatado, no entanto, a eclodibilidade foi relatada em 20 estudos e o desempenho pós-nascimento em 14 estudos.

Em relação à qualidade metodológica, os estudos de Ipek et al., (2004), Leitão et al. (2008) exp.1, Salmanzadeh (2012a), Salmanzadeh et al. (2012b), Salmanzadeh et al. (2011a), Tasharofi et al. (2018) e Zhang et al. (2016) obteve a maior pontuação (20 pontos) (Tabela 2). Em todos os artigos foi possível identificar o número de ovos inoculados em cada tratamento. Em 19 artigos, o número de ovos por tratamento foi maior ou igual a 100 ovos. Em 20 ensaios, os ovos foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos e em apenas um este fato não foi evidenciado.

Em todos os artigos, o volume e o veículo usados para inocular carboidratos também foram relatados. O menor volume inoculado foi de 0,05 mL/ovo (Abousaad et al., 2017a; 2017b) e o máximo foi de 1,2 mL/ovo (Zhai et al., 2011b) com solução salina

como principal veículo utilizado (13 ensaios). O principal local de inoculação foi o líquido amniótico (10 ensaios), seguido pelo albúmen (5 ensaios) e a cavidade alantóide (2 ensaios). A gema e a câmara de ar foram usadas em apenas um estudo cada. Em 2 ensaios, o local de inoculação não foi evidenciado. A inoculação das soluções ocorreu principalmente no terço final da incubação, entre os dias 16 e 18 de incubação (16 artigos). Em 4 artigos, a inoculação foi realizada no 7º dia e em um ensaio no 8º dia de incubação.

A maioria dos estudos (18 no total) relatou que a idade das matrizes variava entre 24 e 70 semanas. Em apenas 3 estudos, essa informação não foi relatada. O peso do ovo foi relatado em 14 artigos e variou entre 54 e 70g. A linhagem Cobb foi usada em 9 estudos, Ross em 6 e Arbor Acres em 2 estudos. Em 4 ensaios não houve descrição da linhagem usada. Em 15 ensaios, as condições de incubação foram apresentadas de forma adequada.

Principais resultados dos ensaios avaliados

Em 4 ensaios, a glicose aumentou a eclodibilidade (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Palaniyandi et al., 2018; Salmanzadeh et al., 2012b; Salmanzadeh et al., 2011a) (Tabela 3), enquanto em 2 ensaios, houve uma redução (Leitão et al., 2008; Pedroso et al., 2006). A dextrina também reduziu a eclodibilidade em 3 ensaios (Abousaad et al., 2017a; Ghanaatparast-Rashti et al., 2017; Zhai et al., 2011b). Em 12 ensaios, a inoculação *in ovo* de carboidratos não influenciou a eclodibilidade.

Em 8 ensaios, foi observado maior peso ao nascimento com dextrina (Abousaad et al., 2017a exp.1 e 2), maltose (Jia et al., 2011) e glicose (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh et al., 2012a; 2012b; 2011a; 2011b). Apenas Abousaad et al. (2017a) e Leitão et al. (2008) relataram uma redução no peso ao nascimento ao inocular dextrina e glicose, respectivamente. Nos demais estudos não houve diferença significativa entre os tratamentos inoculados com seus respectivos controles (placebo).

Em 4 ensaios, a inoculação de glicose aumentou o ganho de peso 42 dias após a eclosão (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh et al., 2012a; 2012b; 2011b), com menor conversão alimentar em 2 ensaios (Salmanzadeh et al. 2012a; 2012b). A dextrina aumentou o ganho de peso aos 10 (Abousaad et al., 2017a exp.3) e aos 42 dias após a eclosão (Abousaad et al., 2017b exp.2). Menor conversão alimentar aos 21 dias foi observado com a inoculação de glicose e sacarose (Campos et al., 2011).

Metanálise

Eclodibilidade

Dos 21 artigos selecionados, 46 comparações entre a inoculação de carboidratos e o controle (solução de placebo) foram utilizadas. A análise global mostrou que a inoculação de carboidratos reduziu ($P < 0,01$) a eclodibilidade dos ovos (SMD = -4,66, IC_{95%} = -7,37 a -1,95), resultado confirmado em estudos classificados como de alta qualidade metodológica (Figura 2). Piores resultados foram obtidos com frutose, dextrose e sacarose, embora apenas um estudo tenha sido realizado com cada carboidrato. A glicose reduziu a eclodibilidade (SMD = -4,31, IC_{95%} = -8,57 a -0,04; $P < 0,05$) em 22 comparações. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) quando dextrina, maltose ou uma mistura de carboidratos foram inoculadas *in ovo*.

Quanto ao tipo de linhagem, Ross mostrou reduzir a taxa de eclodibilidade ($P < 0,05$) quando usada para inoculação de carboidratos. Em relação ao local de inoculação, houve diminuição da eclodibilidade em 24 comparações quando o carboidrato foi inoculado no líquido amniótico (SMD = -8,49; IC_{95%} = -12,94 a -4,03; $P < 0,01$). Também houve uma diminuição ($P < 0,01$) na eclodibilidade quando a inoculação foi realizada na câmara de ar (3 comparações) ou na gema (apenas 1 comparação). Não houve diferença ($P > 0,05$) quando as soluções foram inoculadas no albúmen (8 comparações) ou na cavidade alantóide (5 comparações).

Menor eclodibilidade foi evidenciada ($P < 0,01$), em 28 comparações, quando a solução salina foi usada como veículo de diluição (SMD = -7,34, IC_{95%} = -11,31 a -3,37). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) quando outras substâncias foram utilizadas como veículos. A inoculação entre o 15º e 18º dia de incubação reduziu a eclodibilidade (SMD = -5,77, IC_{95%} = -8,89 a -2,64; $P < 0,01$) em 38 comparações. Em 8 comparações de soluções de inoculação entre o 7º e o 10º dia não houve efeito ($P > 0,05$) na eclodibilidade.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P = 0,01$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Peso á eclosão

Um total de 50 comparações entre inoculação de carboidrato *in ovo* e controle (solução de placebo) foi usado para comparar o peso ao nascimento. A análise global mostrou que a inoculação de carboidratos aumentou ($P = 0,01$) o peso ao nascimento das

aves (SMD = 0,35, IC_{95%}= 0,08 a 0,61), resultados confirmados (P<0,01) por estudos com alta qualidade metodológica (Figura 3). Os melhores resultados foram obtidos (P<0,05) com maltose (7 comparações), seguida de glicose (25 comparações), sacarose, frutose e dextrose (1 comparação cada). A dextrina não influenciou (P>0,05) o peso ao nascimento em 10 comparações.

Em relação à metodologia utilizada, observou-se maior peso ao nascimento (P<0,05) quando foram utilizadas as linhagens Arbor Acres (2 comparações) ou Ross (16 comparações), e o local de inoculação foi o albúmen (11 comparações) ou a gema (1 comparação). Não houve diferenças (P>0,05) no peso ao nascimento quando as soluções foram inoculadas em outros lugares dos ovos embrionados. O veículo de diluição que forneceu melhores resultados foi água deionizada (10 comparações). Não houve diferença significativa (P>0,05) quando outros veículos de diluição foram utilizados. E maior peso ao nascimento foi obtido quando as soluções foram inoculadas entre o 7º e o 10º dia de incubação.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada (P>0,05) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Ganho de peso

Um total de 67 comparações entre inoculação de carboidratos e controle (solução de placebo) foi usado. A análise global mostrou que a inoculação com carboidratos aumentou (P<0,01) o ganho de peso das aves após a eclosão (SMD = 0,76, IC_{95%}= 0,55 a 0,97), resultado confirmado (P<0,01) em ambos os estudos com alta e com qualidade metodológica intermediária (Figura 4).

Melhores resultados (P<0,01) foram obtidos com dextrina (24 comparações) e glicose (28 comparações). A linhagem Cobb (35 comparações) teve o melhor resultado (SMD = 1,03, IC_{95%}= 0,71 a 1,34; P <0,01).

Ocorreu maior ganho de peso (P<0,01) quando as soluções foram inoculadas tanto no albúmen (18 comparações) quanto no líquido amniótico (20 comparações). Não houve diferença (P>0,05) no ganho de peso quando outros locais de inoculação foram usados. Maior ganho de peso também foi obtido quando água deionizada (13 comparações) e solução salina (51 comparações) foram utilizadas como veículos de diluição. E maior ganho de peso foi obtido (P<0,01) quando as soluções foram inoculadas entre o 7º e 10º dia de incubação.

Maior ganho de peso pode ser observado ($P < 0,01$) em lotes mistos ($SMD = 0,84$, $IC_{95\%} = 0,61$ a $1,07$), avaliados em qualquer idade após a eclosão, com resultados mais evidentes a partir do 36º dia de vida ($SMD = 1,80$, $IC_{95\%} = 1,49$ a $2,12$).

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P < 0,01$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Consumo de ração

Foram analisadas 41 comparações entre inoculação de carboidratos e controle (solução de placebo). A análise global mostrou que a inoculação *in ovo* com carboidratos não influencia ($P > 0,05$) o consumo de ração pelas aves ($SMD = 0,18$, $IC_{95\%} = -0,20$ a $0,56$). Apesar desse resultado, 23 comparações mostraram que a glicose aumentou ($P < 0,05$) o consumo de ração pelas aves após a eclosão. Resultados semelhantes foram observados ($P < 0,01$) quando as soluções foram inoculadas entre o 7º e o 10º dia de incubação (12 comparações), utilizando água deionizada como veículo (10 comparações). Este resultado de maior consumo foi observado ($P < 0,01$) nas aves a partir do 36º dia de idade.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P > 0,05$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Taxa de conversão alimentar

Um total de 43 comparações entre inoculação de carboidratos e controle (solução de placebo) foi analisado. A análise global mostrou que a inoculação *in ovo* de carboidratos diminui ($P < 0,01$) a conversão alimentar após a eclosão das aves ($SMD = -0,02$, $IC_{95\%} = -0,03$ a $-0,00$), resultado confirmado em estudos de alta qualidade metodológica (Figura 6).

Obteve-se menor conversão alimentar ($P < 0,01$) apenas com a mistura de carboidratos, embora apenas 4 comparações tenham avaliado este tipo de solução. Obteve-se menor conversão alimentar ($P < 0,05$) quando se utilizou a linhagem Cobb (34 comparações). Quanto à metodologia de inoculação, menor conversão alimentar foi obtida quando o albúmen (15 comparações) ou o âmnio (22 comparações) foram usados como locais de inoculação e água deionizada como veículo de diluição (10 comparações). A menor conversão alimentar também foi obtida somente quando as soluções foram inoculadas entre o 7º e o 10º dia de incubação ($P < 0,01$).

Os efeitos da inoculação *in ovo* com carboidratos na conversão alimentar foram observados ($P < 0,01$) somente após 36 dias de idade (SMD= -0,05, IC_{95%}= -0,07 a -0,02) em bandos mistos de aves.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P > 0,05$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7). A Tabela 4 apresenta um resumo dos principais resultados obtidos com a metanálise, considerando o tipo de carboidrato e a metodologia *in ovo* utilizada.

Discussão

A inoculação *in ovo* de carboidratos não é considerada uma nova metodologia (Ipek et al., 2004; Tako et al., 2004). Porém, até o momento não há estudos suficientes que comprovem qual a melhor combinação de carboidratos é capaz de melhorar os índices produtivos da avicultura. No presente estudo, pode-se comprovar que a dextrina apresentou melhores resultados por aumentar o ganho de peso após a eclosão, sem influenciar a eclodibilidade. A maltose, por outro lado, aumentou o peso ao nascimento, mas não influenciou os demais parâmetros analisados. E a glicose, por sua vez, aumentou o peso ao nascimento e subsequente ganho de peso das aves, entretanto, reduziu a eclodibilidade e aumentou o consumo de ração.

Resultados isolados dos estudos mostram que a inoculação *in ovo* com carboidratos pode melhorar a eclodibilidade (Salmanzadeh et al., 2011a; Salmanzadeh et al., 2012b; Palaniyandi et al., 2018; Kanagaraju e Rathnapraba, 2019), peso ao nascimento (Abousaad et al., 2017a; Jia et al., 2011; Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh et al., 2012a) e o desempenho zootécnico de aves (Abousaad et al., 2017b; Campos et al., 2011; Kanagaraju and Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh et al., 2012a). No entanto, essas melhorias são resultado da combinação de diversos fatores, como a quantidade de carboidrato inoculada, a linhagem utilizada, a localização e a idade embrionária da inoculação, bem como o veículo de diluição utilizado.

Embora a dextrina tenha sido indicada como uma substância incapaz de influenciar a eclodibilidade, esse fato deve ser analisado com cautela. Estudos mostram que grandes quantidades desse carboidrato (acima de 100 mg/ovo) podem prejudicar a eclodibilidade (Ghanaatparast-Rashti et al., 2017). O mesmo resultado pode ser observado com glicose em doses acima de 300 mg/ovo (Pedroso et al., 2006; Zhai et al., 2011b). Essa redução na eclodibilidade está provavelmente associada à hidratação excessiva do embrião (Zhai et al., 2011b). Essa hidratação está diretamente relacionada à osmolaridade da solução, que, por sua vez, depende do veículo de diluição. No presente

estudo, a solução salina mostrou-se prejudicial à eclodibilidade, provavelmente devido à maior quantidade de eletrólitos. Apenas 6 estudos descreveram a osmolaridade das soluções, que variou de cerca de 280 mOsm (Abousaad et al., 2017a; 2017b) a 3.486 mOsm (Pedroso et al., 2006). Segundo Uni e Ferket (2004), a pressão osmótica não deve ultrapassar 800 mOsm. Na maioria das soluções relatadas/testadas estavam acima dos níveis recomendados. Por esse motivo, a mensuração da osmolaridade em estudos com nutrição *in ovo* é muito importante para a interpretação dos resultados.

Quanto ao peso ao nascimento, os resultados do presente estudo mostram que a inoculação de carboidratos pode ser benéfica, principalmente com glicose. Outros carboidratos como dextrose, frutose, maltose e sacarose também apresentaram resultados positivos, porém, não há estudos suficientes para comprovar esses achados (Figura 3). Sabe-se que o final do desenvolvimento embrionário é caracterizado por maior demanda energética, principalmente de carboidratos, uma vez que o metabolismo anaeróbico é acentuado nesse momento (Khaligh et al., 2017). Nesse caso, a maior oferta de glicose pode significar uma redução no catabolismo de proteínas e lipídios corporais, resultando em pintinhos que nascem com maior peso (Kornasio et al., 2011; Jha et al., 2019). Além disso, o aumento do peso corporal do pintinho pode estar associado a um maior desenvolvimento do trato gastrointestinal devido à inoculação de carboidratos (Jia et al., 2011; Mohammed e Al-Hassani, 2020). Essa melhora no desenvolvimento do trato gastrointestinal também pode estar relacionada ao melhor desempenho pós-eclosão, pois as aves eclodem mais preparadas para os desafios do ambiente externo.

Em relação ao desempenho pós-nascimento, tanto a dextrina (Abousaad et al., 2017a exp.3; Abousaad et al., 2017b) quanto a glicose (Salmanzadeh et al., 2011b; Salmanzadeh et al., 2011a; Salmanzadeh, 2012a; Salmanzadeh et al., 2012b) provaram ser benéficas. Esse resultado pode estar associado ao maior desenvolvimento das fibras musculares durante o desenvolvimento embrionário, pois a glicose é capaz de estimular a liberação de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) (Duclos et al., 1993; Bhanja et al., 2015). De acordo com Lu et al. (2007), o IGF aumenta significativamente nos primeiros dois terços da incubação e cai rapidamente entre o 14º e o 20º dia de incubação. Isso explica porque a inoculação *in ovo* de carboidratos no terço médio da incubação (entre o 7º e o 10º dia) dá melhores resultados do que quando inoculada no terço final (entre o 15º e o 18º dia).

Quanto ao local de administração dos carboidratos no ovo, Abousaad et al. (2017a) consideram que a inoculação no líquido amniótico é ideal para nutrição *in ovo*.

A presente metanálise mostrou que houve, de fato, um aumento no ganho de peso após a eclosão, porém, foi associado a uma redução na eclodibilidade. Por outro lado, a inoculação de carboidratos no albúmen aumentou o peso ao nascimento e o ganho de peso após a eclosão, sem influenciar a eclodibilidade. Esse resultado sugere que os carboidratos depositados no albúmen são mais bem aproveitados pelo embrião.

Os resultados apresentados até o momento mostram que os carboidratos são nutrientes importantes a serem considerados na nutrição *in ovo*. Estudos futuros considerando a melhor combinação de carboidratos, bem como a melhor avaliação dos níveis de cada um deles isoladamente, utilizando a técnica mais adequada são importantes para a consolidação desta técnica em incubatórios comerciais.

Conclusão

A inoculação *in ovo* de carboidratos pode ser usada para melhorar o desempenho de frangos de corte. A dextrina é o carboidrato mais adequado, seguida da glicose e da maltose. A água deionizada deve ser utilizada como veículo de diluição, sendo o albúmen o local recomendado para inoculação. As soluções devem ser inoculadas entre o 7º e o 10º dia de incubação.

Referências

- Abdel-Halim, A., Mohamed, F.R., Elmenawey, M.A., Gharib, H.B., 2020. Impact of *in ovo* injection of folic acid and glucose on hatchability and posthatching performance of broiler chickens. *J. Vet.* 10, 481-491.
- Abousaad, S., Lassiter, K., Piekarski, A., Chary, P., Striplin, K., Christensen, K., Bielke, L.R., Hargis, B.M., Dridi, S., Bottje, W.G., 2017 (a). Effects of *in ovo* feeding of dextrin-iodinated casein in broilers: I. Hatch weights and early growth performance. *Poult. Sci.* 96, 1473-1477.
- Abousaad, S., Lassiter, K., Piekarski, A., Chary, P., Striplin, K., Christensen, K., Bielke, L.R., Hargis, B.M., Dridi, S., Bottje, W.G., 2017b. Effect of *in ovo* feeding of dextrin-iodinated casein in broilers: II. Hatch window and growth performance. *Poult. Sci.* 96, 1478-1484.
- Bhanja, S. K., Goel, A., Pandey, N., Mehra, M., Majumdar, S., Mandal, A. B., 2015. *In ovo* carbohydrate supplementation modulates growth and immunity-related genes in broiler chickens. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99, 163-173.
- Campos, A.M.A., Rostagno, H.S., Gomes, P.C., Da Silva, E.A., Albino, L.F.T., Nogueira, E.T., 2011. Efeito da inoculação de soluções nutritivas *in ovo* sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. *Rev. Br. Zootecnia.* 40, 1712-1717.
- Santos, T.T., Corzo, A., Kidd, M.T., Mc Daniel, C.D., Torres Filho, R.A., Araújo, L.F., 2010. Influence of *in ovo* inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. *J. Appl. Poult. Res.* 19, 1-12.
- Duclos, M.J., Chevalier, B., Le Marchand-Brustel, Y., Tanti, J.F., Goddard, C., Simon, J., 1993. Insulin-like growth factor-I-stimulated glucose transport in myotubes derived from chicken muscle satellite cells. *J. Endocrinol.* 137, 465-472.
- Ghanaatparast-Rashti, M., Mottaghitlab, M., Ahmadi, H., 2017. *In ovo* feeding of beta-hydroxy beta-methylbutyrate and dextrin optimized growth performance of broiler for pre-placement holding time using the Box-Behnken response surface design. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102, e806-e817.
- Idris, N.R.N., Robertson, C., 2009. The effects of imputing the missing standard deviations on the standard error of meta analysis estimates. *Commun. Stat.-Simul. Comput.* 38, 513-526.
- Ipek, A., Sahan, U., Yilmaz, B. 2004. The effect of *in ovo* ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. *Arch. Geflugelk.* 68, 132-135.

- Jha, R., Singh, A.K., Yadav, S., Berrocoso, J.F.D., Mishra, B., 2019. Early nutrition programming (*in ovo* and post-hatch feeding) as a strategy to modulate gut health of poultry. *Front. Vet. Sci.* 6, 82.
- Jia, C.L., Wei, Z.H., Yu, W., Wang, X.Q., Yu, F., 2011. Effect of *in-ovo* feeding maltose on the embryo growth and intestine development of broiler chicken. *Indian J. Anim. Sci.* 81, 71-74.
- Kanagaraju, P., Rathnapraba, S., 2019. Effect of *in-ovo* injection of glucose and egg white protein on the production performance and gut histomorphometry of broiler chicken. *Ind. J. Anim. Res.* 53, 675-679.
- Khaligh, F., Hassanabadi, A., Nassiri-Moghaddam, H., Golian, A., Kalidari, G.A., 2017. Effects of *in ovo* injection of chrysin, quercetin and ascorbic acid on hatchability, somatic attributes, hepatic oxidative status and early post-hatch performance of broiler chicks. *J. Anim. Physiol. Anim.* 102, 1-8.
- Kornasio, R., Halevy, O., Kedar, O., Uni, Z., 2011. Effect of *in ovo* feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. *Poult. Sci.* 90, 1467-1477.
- Leitão, R.A., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J.H., Pedroso, A.A., Chaves, L.S., 2008. Inoculation of glucose *in ovo* of broiler breeders/eggs: Incubation parameters and initial performance. *Cienc. Anim. Bras.* 9, 847-855.
- Lu, J.W., Mc Murtry, J.P., Coon, C.N., 2007. Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. *Poult. Sci.* 86, 673-683.
- Mohammed, R.J., Al-Hassani, D.H., 2020. The effect of early feeding by *in ovo* injection and post hatch in hatchery on some hatching traits, liver glycogen and duodenal villi of broiler chickens. *Biochem. Cell. Arch.* 20, 4003-4007.
- Neves, D.G., Retes, P.L., Rocha, R.R., Ferreira, L.G., Naves, L.P., Alvarenga, R.R., Zangeronimo, M.G., 2017. Effects of *in ovo* feeding with glycerol for broilers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 101, 434-440.
- Palaniyandi, K., Mannu, B., Shunmugan, R., Sambandam, R., Harishchandra, S.S., 2018. Effect of *In-ovo* injection of Glucose, Lysine, Threonine and β -hydroxy- β -methylbutarate (HMB) on the carcass traits of commercial broilers. *Indian. J. Vet.* 95, 52-54.

- Pedroso, A.A., Chaves, L.S., Lopes, K.L.A.M., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J.H., 2006. Nutrient inoculation in eggs from heavy breeders. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 2018-2026.
- Retes, P.L., Clemente, A.H.S., Neves, D.G., Espósito, M., Makiyama, L., Alvarenga, R.R., Pereira, L.J., Zangeronimo, M.G., 2018. *In ovo* feeding of carbohydrates for broilers - a systematic review. *J. Anim. Physiol. Anim.* 102, 361-369.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnejad, Y., Shahryar, H.A., Gorbani, A., Oskuei, H.R., 2011a. The Effects of *in ovo* Glucose Administration on Hatching Results and Subsequent Blood Glucose Concentration in Newly-Hatched Chicks. *J. Appl. Biol. Sci.* 5, 21-22.
- Salmanzadeh, M., Nezhad, Y.E., Shahryar, H.A., Ashrafi, S., Moghaddam, P.P., Lotfi, A., 2011b. The effects of *in ovo* administration of glucose on carcass characterizes of broiler chickens. *Glob. Vet.* 6, 429-432.
- Salmanzadeh, M., 2012a. The Effects of In-Ovo Injection of Glucose on Hatchability, Hatching Weight and Subsequent Performance of Newly-Hatched Chicks. *Poult. Sci.* 14, 71-158.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Aghdam Shahryar, H., Beheshti, R., 2012b. 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. Geflügel.* 76, 277-284.
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.-J., St-Pierre, N.R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal.* 2, 1203-1214.
- StataCorp. 2019. Stata Statistical Software: Release. Cpççege Station, TX: StataCorp – LLC.
- Tako, E., Ferket, P.R., Uni, Z., 2004. Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and betahydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poult. Sci.* 83, 2023-2028.
- Tasharofi, S., Mohammad, F., Amiri, N., Nazem, M.N., 2018. Effects of intra-yolk-sac injection of dextrose and albumin on performance, jejunum morphology, liver and pectoral muscle glycogen and some serum metabolites of broilers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102, 917-923.
- Uni, Z., Ferket, R.P., Tako, E., Kedar, O., 2005. *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poult. Sci.* 84, 764-770.
- Uni, Z., Ferket, R.P., 2004. Methods for early nutrition and their potential. *World's Poult. Sci.* 60, 101-111.

- USDA - United States Department of Agriculture, 2021. https://www.nass.usda.gov/Publications/Todays_Reports/reports/plva0421.pdf (acessado em 14 de setembro de 2021).
- Willemsen, H., Debonne, M., Swennen, Q., Everaert, N., Careghi, C., Han, H., Decuypere, E., 2010. Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. *Poult. Sci.* 66, 177-188.
- Zhai, W., Bennett, L.W., Gerard, P. D., Pulikanti, R., Peebles, E. D., 2011a. Effects of *in ovo* injection of carbohydrates on somatic characteristics and liver nutrient profiles of broiler embryos and hatchlings. *Poult. Sci.* 90, 2681-2688.
- Zhai, W., Gerard, P.D., Pulikanti, R., Peebles, E.D., 2011b. Effects of *in ovo* injection of carbohydrates on embryonic metabolism, hatchability, and subsequent somatic characteristics of broiler hatchlings. *Poult. Sci.* 90, 2134-2143.
- Zhang, L., Zhu, X.D., Wang, X.F., Li, J.L., Gao, F., Zhou, G.H., 2016. Individual and combined effects of *in-ovo* injection of creatine monohydrate and glucose on somatic characteristics, energy status, and posthatch performance of broiler embryos and hatchlings. *Poult. Sci.* 95, 2352-2359.

Tabela 1 - Características dos estudos selecionados.

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Abdel-Halim et al. (2020)	Egito	AA	55	NI	150	17	AL	0.5	SS	Glicose	H, WH e P
Abousaad et al. (2017a)	USA	NI	24; 26; 28	NI	2520	18.5	NI	0.05	SS	Dextrina	H e WH
Abousaad et al. (2017b)	USA	NI	24; 54; 60	NI	450	18.5	NI	0.05	SS	Dextrina	WH e P
Campos et al. (2011)	Brasil	C	40	NI	280	17.5	AF	0.5	SS	Glicose+Sacarose	H, WH e P
Santos et al. (2010)	Brasil	C	30	54; 59.9	800	18	AF	0.5	SS	Maltose Mix	H, WH e P
Ghanaatparast-Rashti et al. (2017)	Iran	R	65	66.4 ±1.3	115	18	AF	0.5	SS	Dextrina	H e WH
Ipek et al. (2004)	Alemanha	R	70	68-70	324	18	CA	0.5	SW	Glicose	H e WH
Jia et al. (2011)	China	NI	NI	56 ±1.3	127	17.5	AF	1.0	SS	Maltose	H e WH
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	Índia	C	34	68 ± 1	100	18	AF	0.5	SS	Glicose	H, WH e P
Leitão et al. (2008) exp.1	Brasil	C	29	54.7 ± 2.4	120	16	AC	0.6	SW	Glicose	H, WH e P
Leitão et al. (2008) exp.2	Brasil	C	27	54.07	96	16	AC	0.6	SS	Glicose	H, WH e P
Mohammed and Al-Hassani (2020)	Iraque	R	NI	NI	150	18	AC	0.5	D	Maltose	H e WH
Palaniyandi et al. (2018)	Índia	NI	NI	NI	90	18	AF	0.5	SS	Glicose	H, WH e P
Pedroso et al. (2006)	Brasil	C	35	NI	130	16	AF	0.5	SS	Glicose	H, WH e P
Salmanzadeh et al. (2011a)	Iran	C	27	60±1	150	7	AL	0.5	DW	Glicose	H e WH
Salmanzadeh et al. (2011b)	Iran	C	28	60±1	144	7	AL	0.5	DW	Glicose	WH e P
Salmanzadeh (2012a)	Iran	C	28	60±1	144	7	AL	0.5	DW	Glicose	H, WH e P
Salmanzadeh et al. (2012b)	Iran	C	29	60±1	108	7	AL	0.5	DW	Glicose	H, WH e P
Tasharofi et al. (2018)	Iran	R	38	62±2	120	8	SC	1.0	D	Dextrose	H, WH e P
Zhai et al. (2011a)	USA	R	34	59±5.9	288	18	AF	0.4	V	Dextrina; Glicose; Sacarose; Maltose	H e WH
Zhai et al. (2011b)	USA	R	32	58±5.8	96	18.5	AF	1.2	SS	Glicose; Frutose; Maltose; Sacarose; Dextrina	H e WH
Zhang et al. (2016)	China	AA	38-40	58-62	110	17.5	AF	0.4	SS	Glicose	H, WH e P

1) País de teste; **2)** Linhagem (C-Cobb; R-Ross; AA-Arbor Acres); **3)** Idade da matriz (semanas); **4)** Peso do ovo (gramas); **5)** Total de ovos por tratamento; **6)** Idade de inoculação (dias); **7)** Local de inoculação (AL-albúmen; AF-líquido amniótico; CA-câmara de ar; AC-cavidade alantóide; SC-gema); **8)** Volume inoculado por ovo (mL); **9)** Veículo (SS-solução salina; SW-água esterilizada; D-água destilada; DW-água deionizada; D-dilúente de vacina); **10)** Carboidrato; **11)** Variáveis (H-eclodibilidade; WH-peso na eclodibilidade; P-desempenho). NI-não informado.

Tabela 2 - Pontuação dos artigos de acordo com os critérios de avaliação da qualidade das evidências.

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
Abdel-Halim et al. (2020)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	19
Abousaad et al. (2017a)	2	2	2	2	1	2	2	1	1	1	16
Abousaad et al. (2017b)	2	2	2	2	1	2	2	1	1	1	16
Campos et al. (2011)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	19
Santos et al. (2010)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	19
Ghanaatparast-Rashti et al. (2017)	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	19
Ipek et al. (2004)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Jia et al. (2011)	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	18
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	19
Leitão et al. (2008) exp.1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Leitão et al. (2008) exp.2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	19
Mohammed and Al-Hassani (2020)	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	17
Palaniyandi et al. (2018)	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	16
Pedroso et al. (2006)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	19
Salmanzadeh et al. (2011a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Salmanzadeh et al. (2011b)	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	19
Salmanzadeh (2012a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Salmanzadeh et al. (2012b)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Tasharofi et al. (2018)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Zhai et al. (2011a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	19
Zhai et al. (2011b)	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	18
Zhang et al. (2016)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20

1. Tamanho da amostra: mais de 100 ovos por tratamento (2) menos de 100 ovos (1).
2. Randomização: estudos que demonstraram randomização (2) não (1).
3. Volume inoculado: volume relatado (2) e se não relatado (1).
4. Veículo de diluição: veículo de diluição relatado (2) e caso não seja relatado (1).
5. Local de inoculação: local de inoculação relatado (2) e caso não seja relatado (1).
6. Idade do embrião: idade do embrião no momento da aplicação relatada (2) e se não relatada (1)
7. Idade da matriz: idade da matriz informada (2) e não informada (1).
8. Peso do ovo: peso do ovo no início da incubação relatado (2) e se não relatado (1)
9. Linhagem: linhagem descrita (2) se não descrita (1)
10. Condições de incubação: temperatura e/ou umidade durante a incubação relatada (2) e se não relatada (1)

Tabela 3 - Principais resultados dos estudos avaliados.

Referências	Carboidrato	Eclodibilidade	Peso á eclosão	GP	CR	CA
Abdel-Halim et al. (2020)	Glicose	NS	NS	NS	NS	NS
Abousaad et al. (2017a) exp.1	Dextrina	-	+	NA	NA	NA
Abousaad et al. (2017a) exp.2	Dextrina	NS	+	NA	NA	NA
Abousaad et al. (2017a) exp.3	Dextrina	NS	-	+	NA	NA
Abousaad et al. (2017b) exp.1	Dextrina	NA	NS	NS	NA	NA
Abousaad et al. (2017b) exp.2	Dextrina	NA	NS	+	NA	NA
Abousaad et al. (2017b) exp.3	Dextrina	NA	NS	NS	NA	NA
Campos et al. (2011)	Glicose+Sacarose	NS	NS	NS	NS	-
Santos et al. (2010)	Mistura de Maltose	NS	NS	NS	NS	NS
Ghanaatparast-Rashti et al. (2017)	Dextrina	-	NS	NA	NA	NA
Ipek et al. (2004)	Glicose	NS	NS	NA	NA	NA
Jia et al. (2011)	Maltose	-	+	NA	NA	NA
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	Glicose	+	+	+	+	+
Leitão et al. (2008) exp.1	Glicose	-	NS	NS	NS	NS
Leitão et al. (2008) exp.2	Glicose	NS	-	NS	NS	NS
Mohammed and Al-Hassani (2020)	Maltose	NS	NS	NA	NA	NA
Palaniyandi et al. (2018)	Glicose	+	NS	NS	NA	NS
Pedroso et al. (2006)	Glicose	-	NS	NS	NS	NS
Salmanzadeh et al. (2011a)	Glicose	+	+	NA	NA	-
Salmanzadeh et al. (2011b)	Glicose	NA	+	+	NA	-
Salmanzadeh (2012a)	Glicose	NS	+	+	+	+
Salmanzadeh et al. (2012b)	Glicose	+	+	+	NS	+
Tasharofi et al. (2018)	Dextrose	NS	NS	NS	NS	NS
Zhai et al. (2011a)	Dextrina; Glicose; Sacarose; Maltose	NS	NS	NA	NA	NA
Zhai et al. (2011b)	Glicose; Frutose; Maltose; Sacarose; Dextrina	-	NS	NA	NA	NA
Zhang et al. (2016)	Glicose	NS	NS	NS	NS	NS

GP: Ganho de peso; CR: Consumo de ração; CA: Taxa de conversão alimentar; NS: não significativo; NA: não avaliado; (-): diminuiu; (+): aumentou.

Tabela 4 - Resumo dos principais resultados da metanálise, considerando o tipo de carboidrato e a metodologia utilizada.

	Eclodibilidade	Peso à eclosão	Ganho de peso	Consumo de ração	Conversão alimentar
<i>Carboidrato</i>					
Dextrina	NS	NS	+	NA	NA
Dextrose	-	+	NS	NS	NS
Frutose	-	+	NA	NA	NA
Glicose	-	+	+	+	NS
Maltose	NS	+	NS	NS	NS
Sacarose	-	+	NA	NA	NA
<i>Local de inoculação</i>					
Câmara de ar	-	NS	NA	NA	NA
Albúmen	NS	+	+	NS	-
Líquido Amniótico	-	NS	+	NS	-
Cavidade Alantóide	NS	NS	NS	NS	+
Gema	-	+	NS	NS	NS
<i>Veículo de inoculação</i>					
Água deionizada	NS	+	+	+	-
Água destilada	NS	NS	NS	NS	NS
Solução salina	-	NS	+	NS	NS
Água esterilizada	NS	NS	NS	NS	NS
Diluyente para vacina	NS	NS	NA	NA	NA
<i>Idade de inoculação</i>					
7 a 10 dias	NS	+	+	+	-
15 a 18 dias	-	NS	+	NS	NS

NS: não significativo; (-): diminuiu; (+): aumentou; NA: não avaliado.

Figura 1 - Fluxograma da busca e seleção dos artigos a partir da seguinte combinação de palavras: (*carbohydrate AND "in ovo"*). Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação desta revisão.

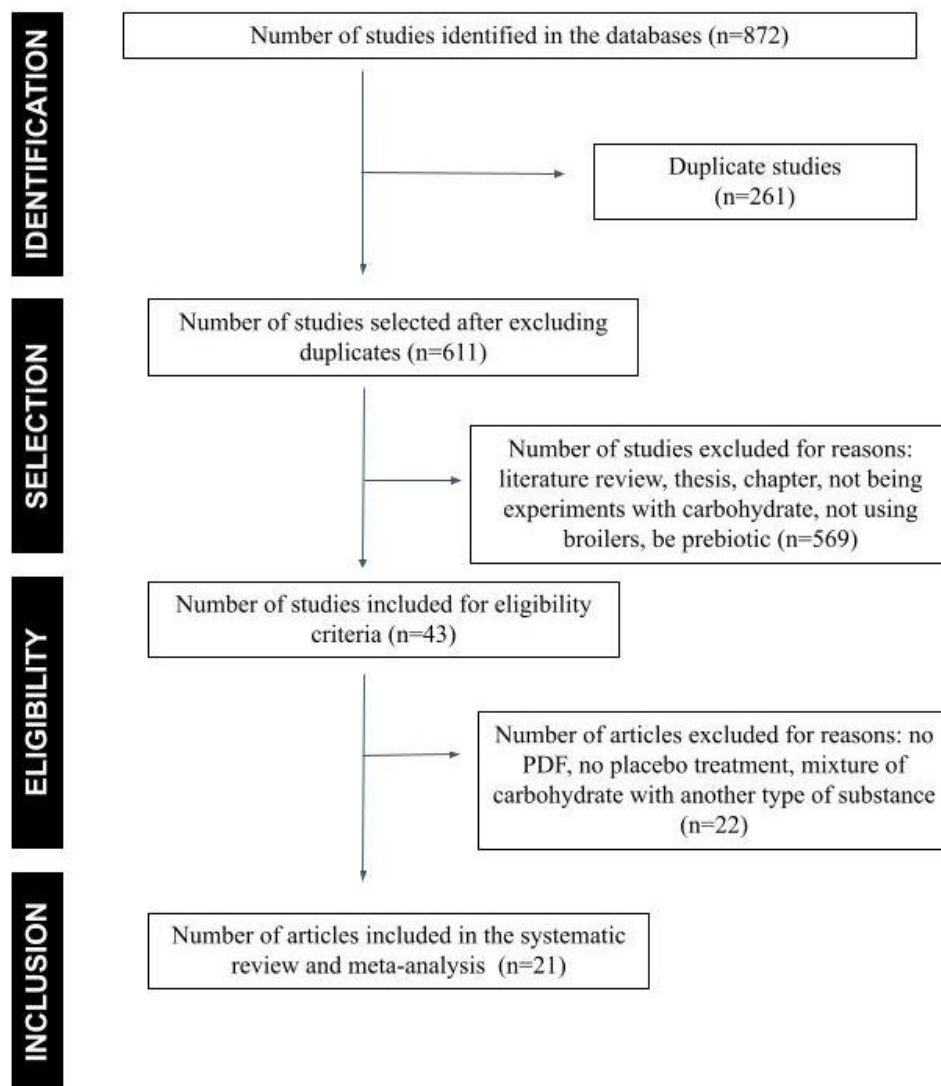


Figura 2 - Resumo da variação (Δ) da eclodibilidade (%) de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.

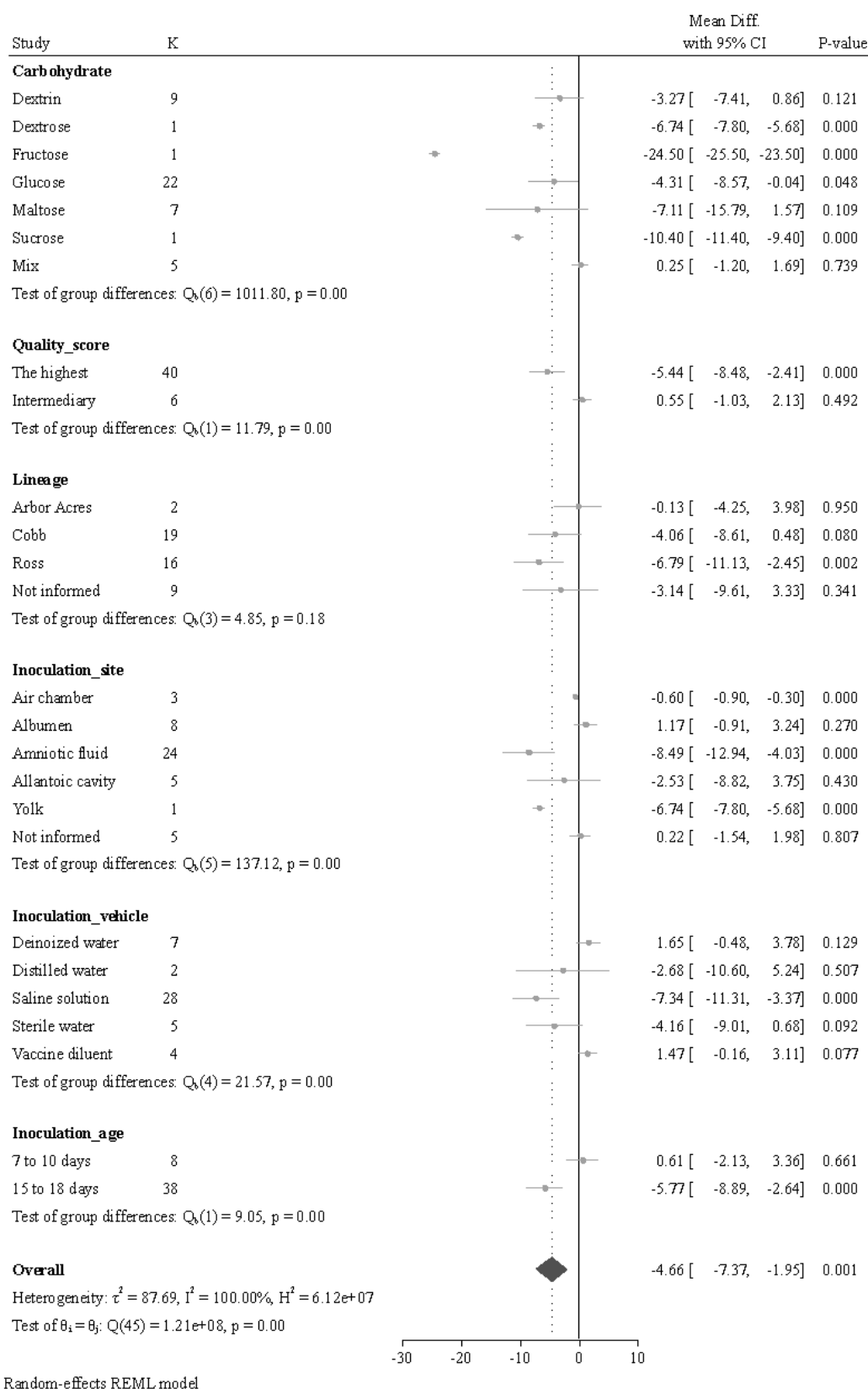


Figura 3 - Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.

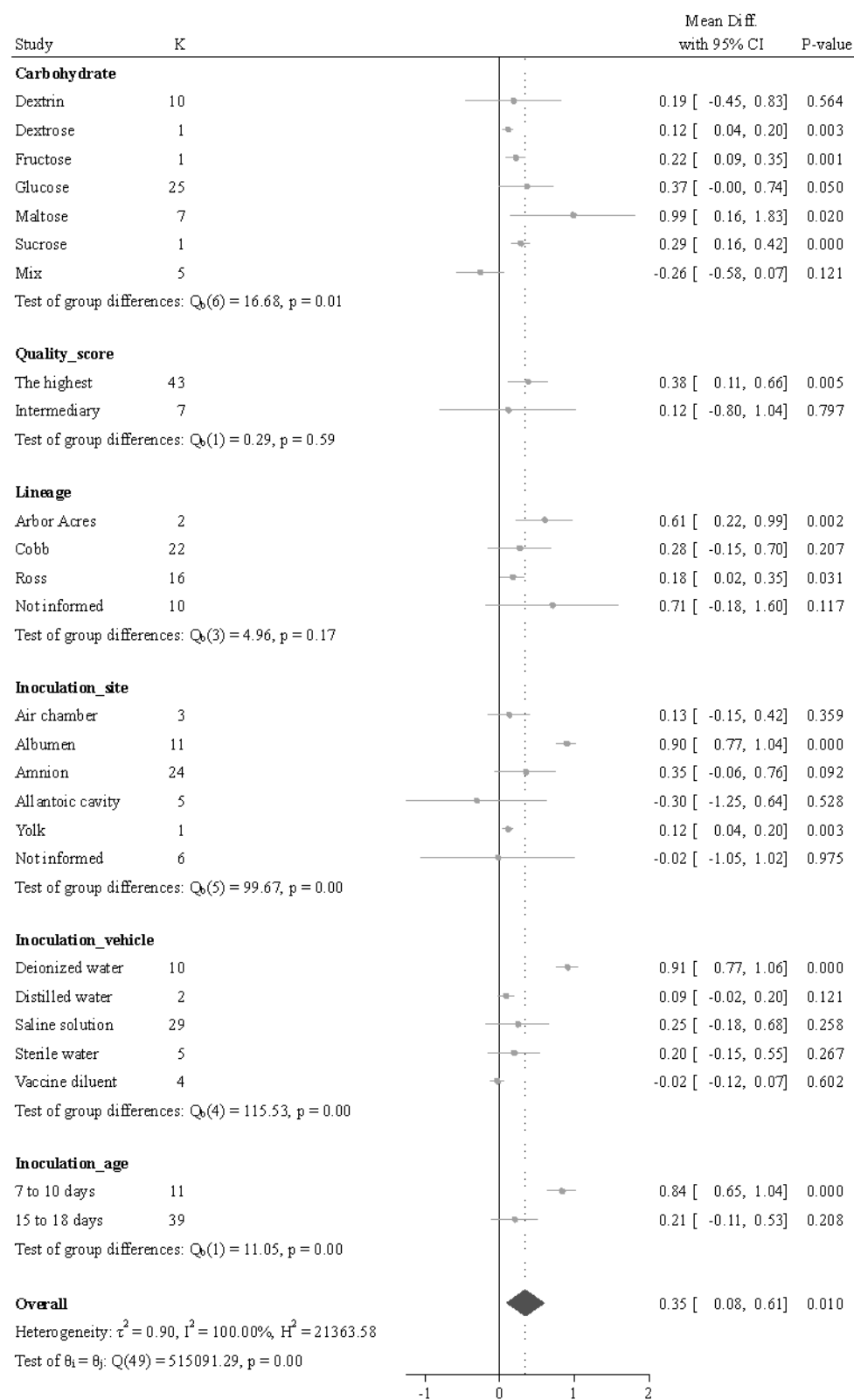


Figura 4 - Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação do desempenho da ave e gênero.

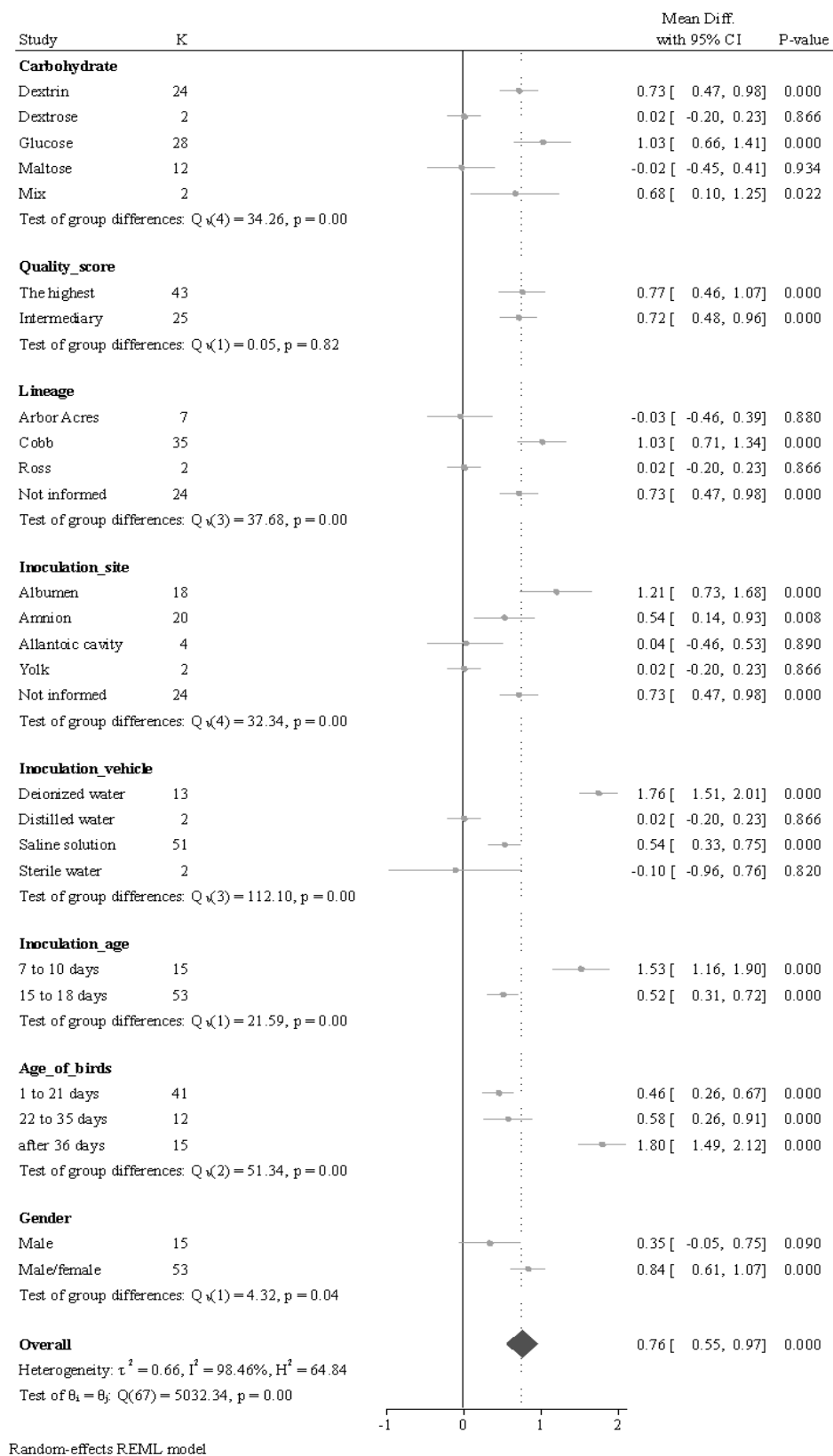
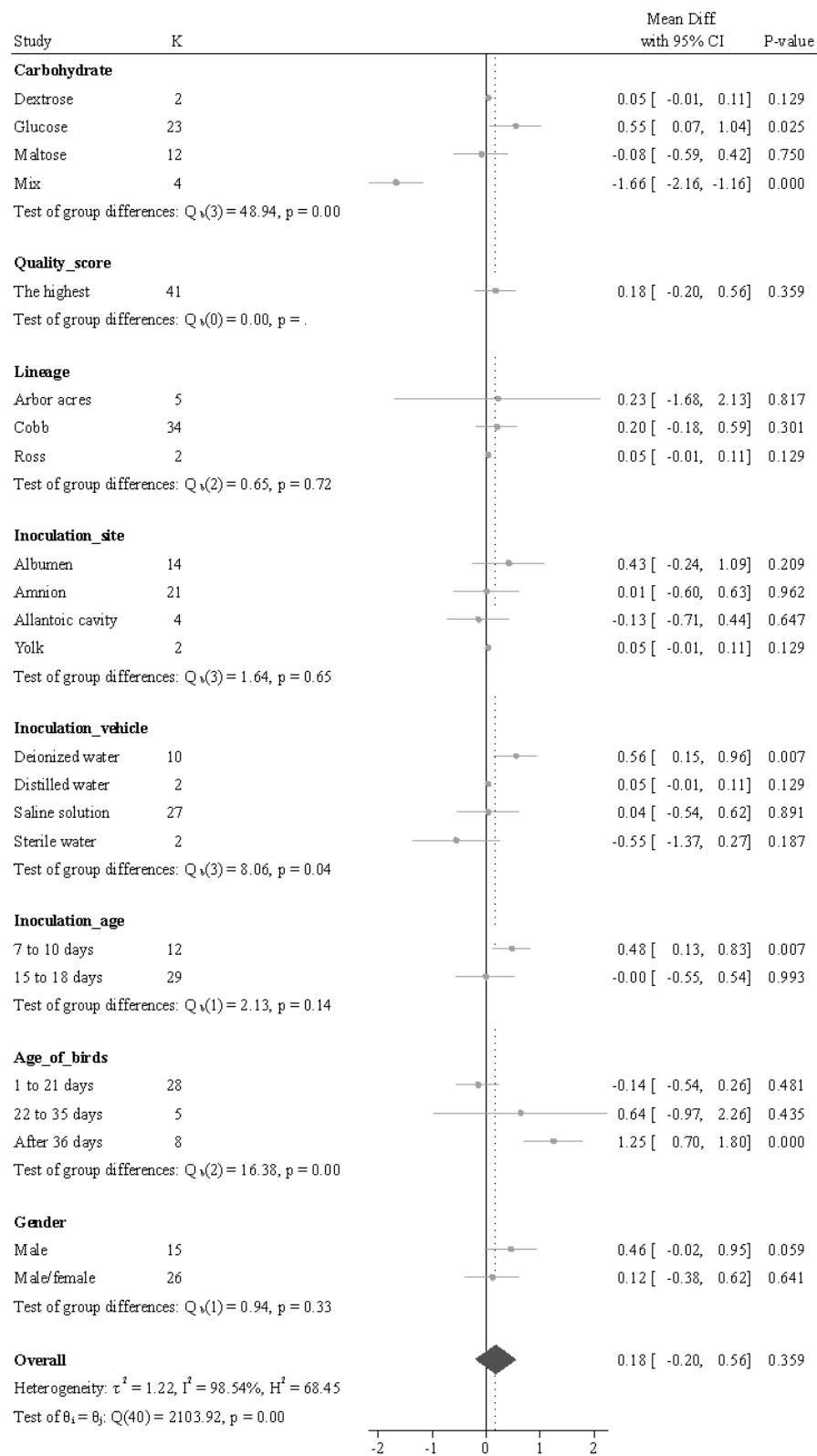


Figura 5 - Resumo da variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação do desempenho da ave e gênero.



Random-effects REML model

Figura 6 - Resumo da variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os subgrupos tipo de carboidrato inoculado, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação do desempenho da ave e gênero.

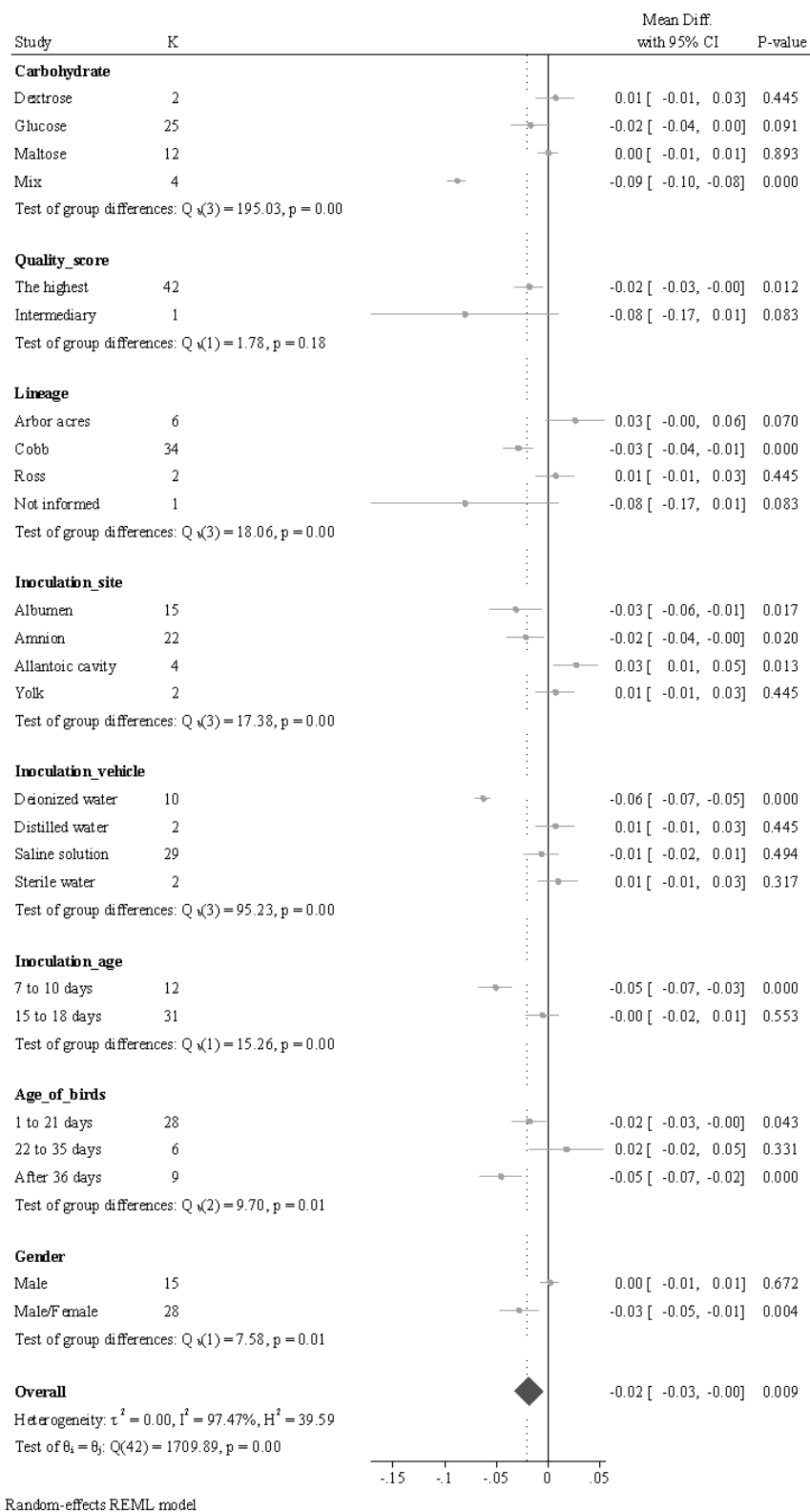


Figura 7 - Gráfico de *Funnel Plot* com intervalo de confiança de 95% obtidos com o modelo de efeito aleatório linear para eclodibilidade, peso á eclosão, ganho de peso, consumo de ração e taxa de conversão alimentar como resultado.

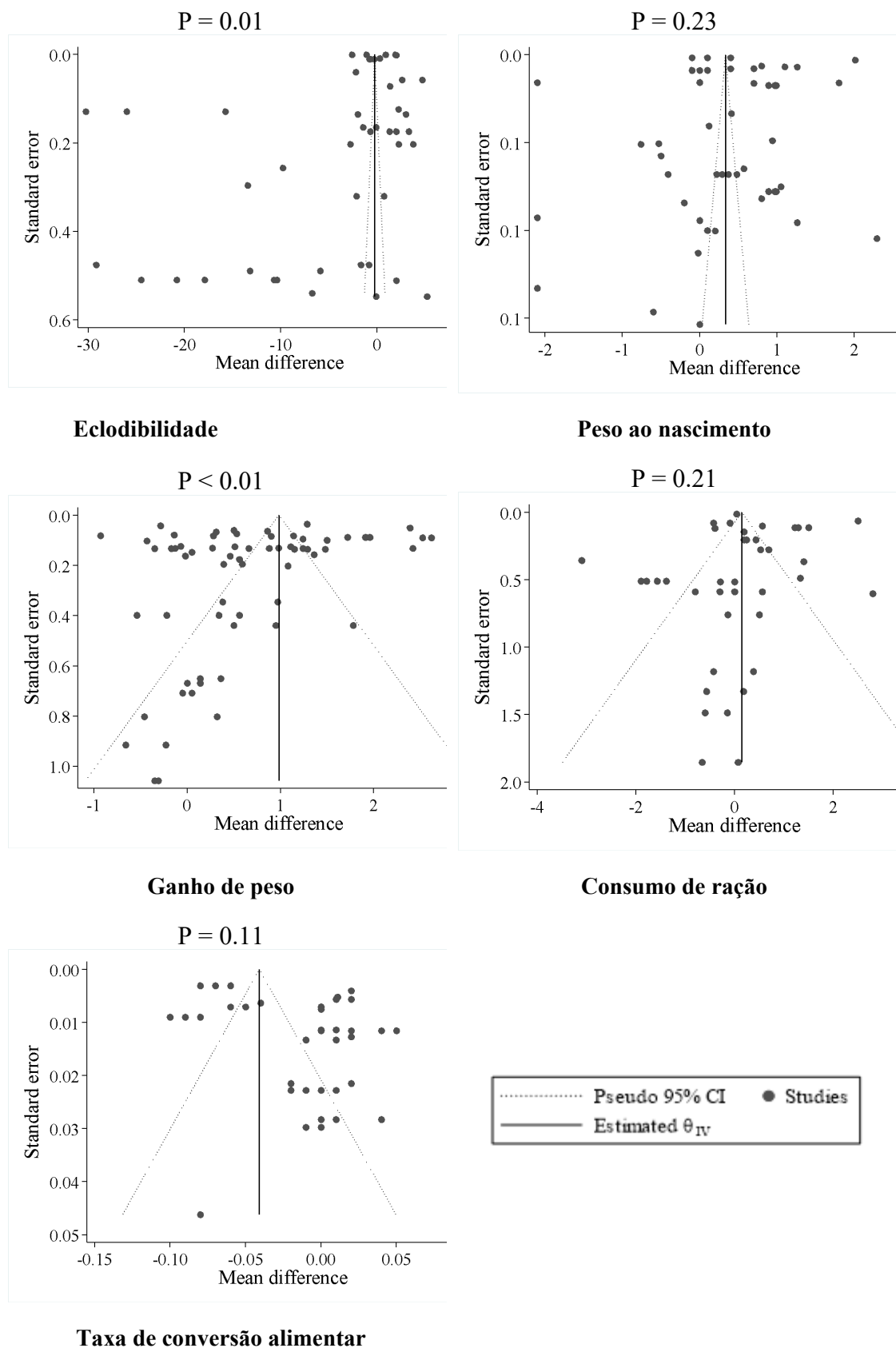
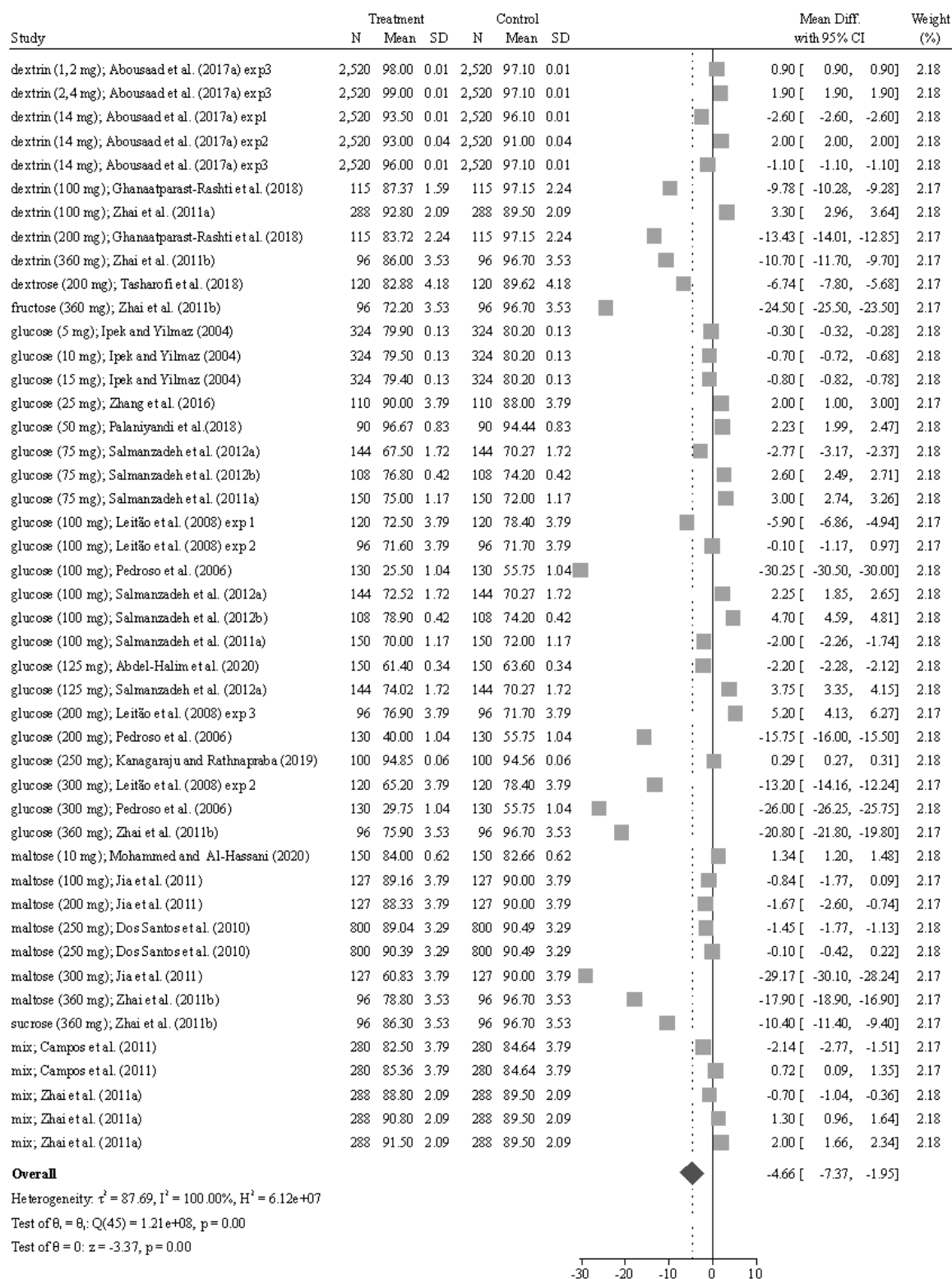
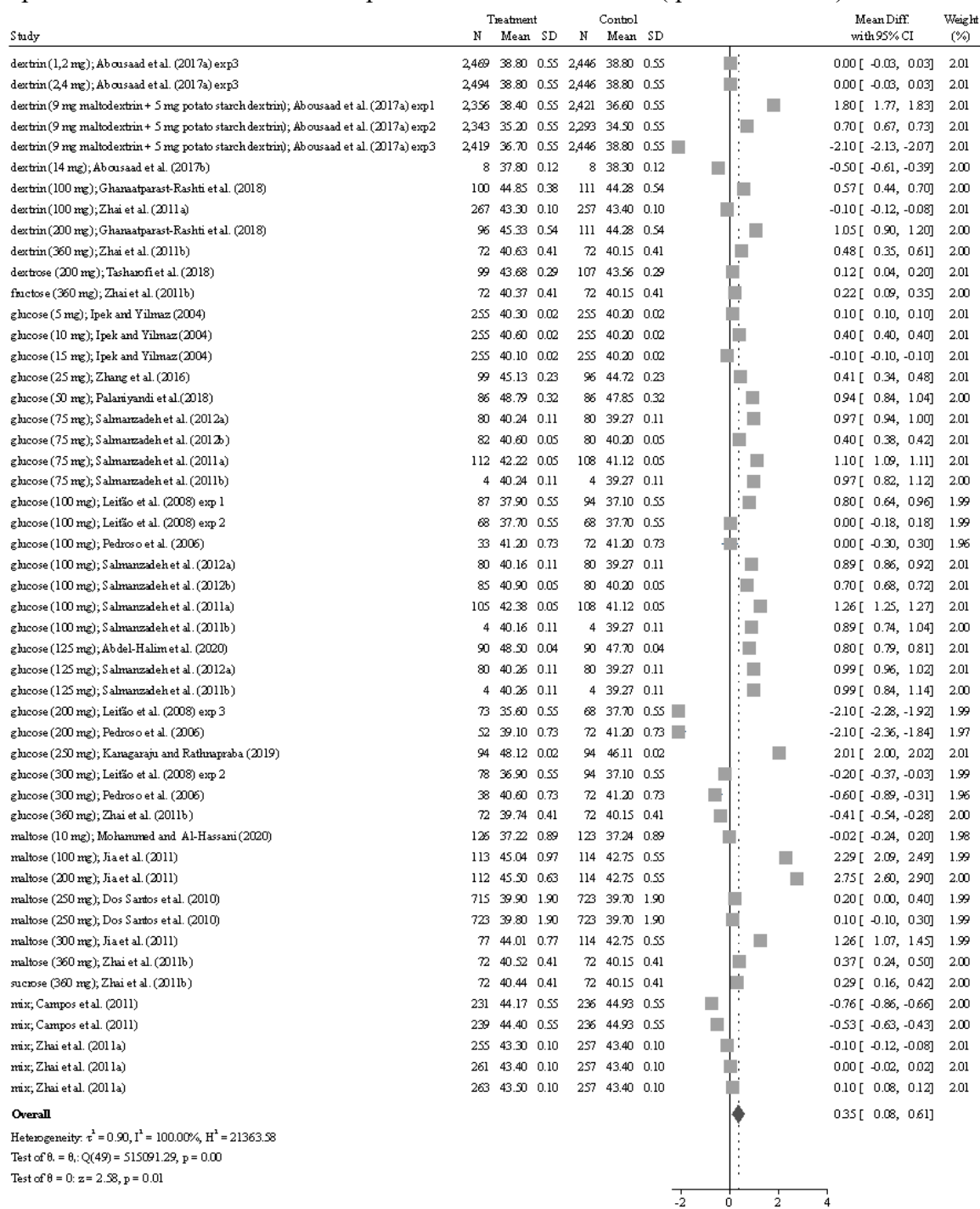


Figura 8 - Variação (Δ) na eclodibilidade dos ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.



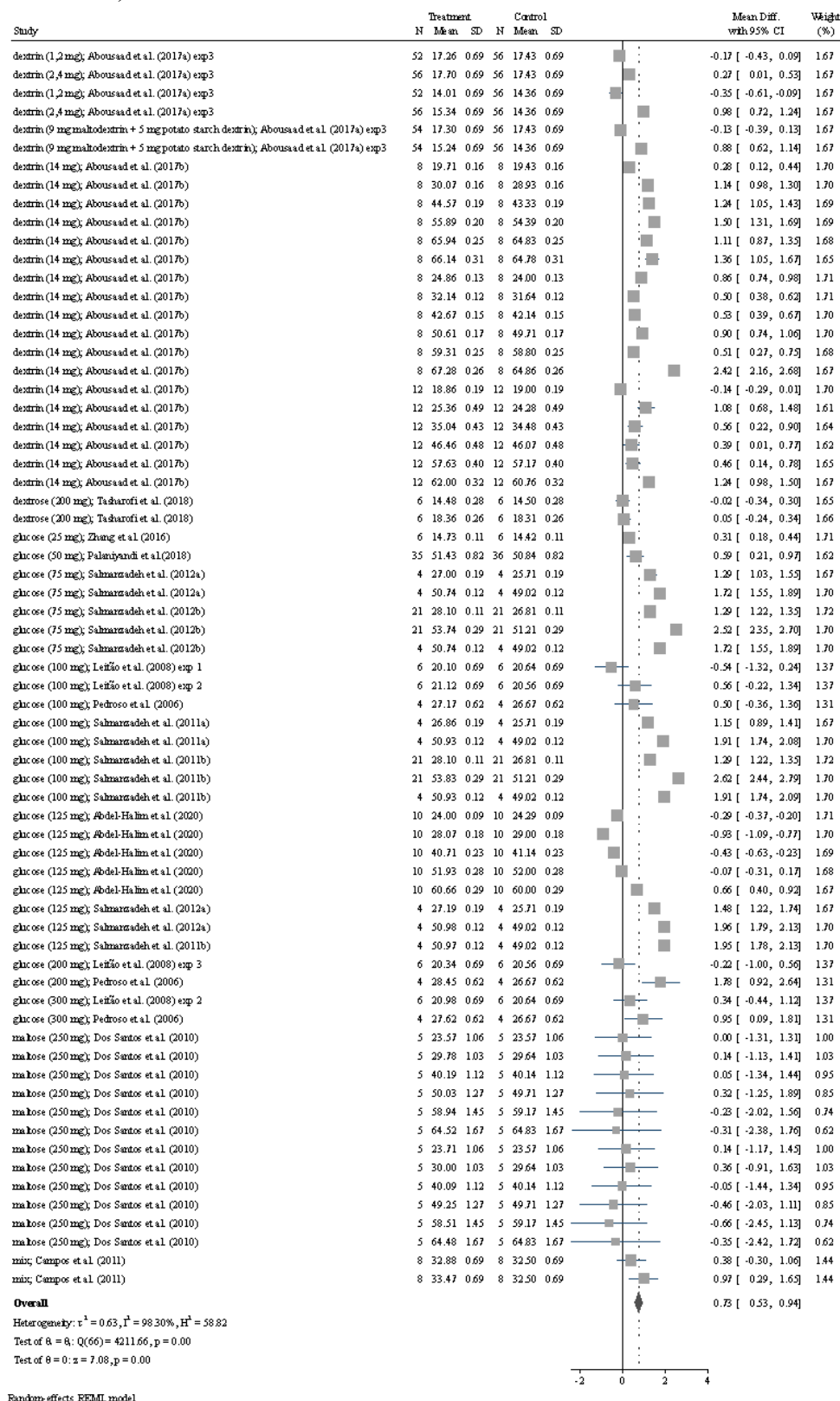
Random-effects REML model

Figura 9 - Variação (Δ) do peso à eclosão (g) de frangos de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.



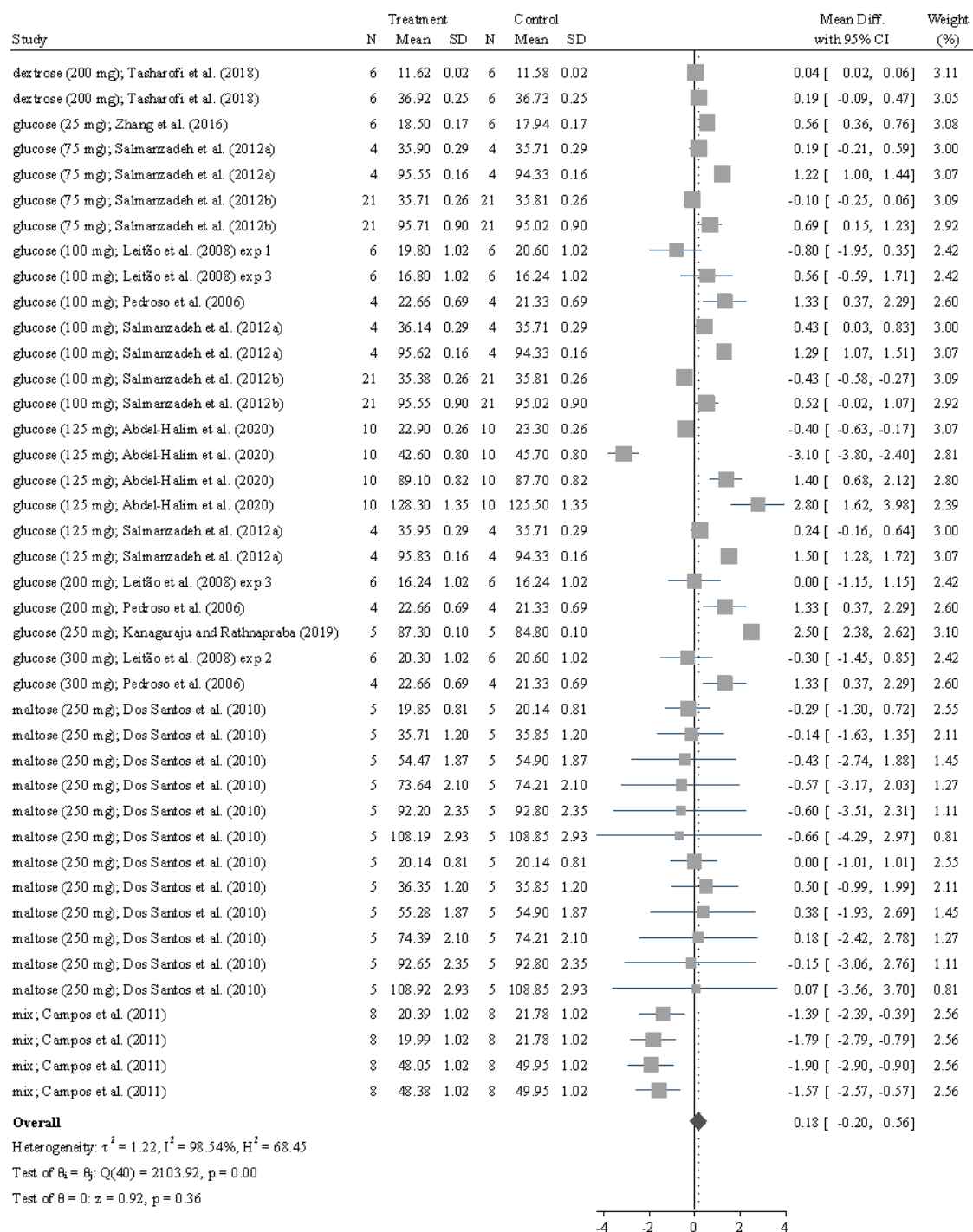
Random-effects REML model

Figura 10 - Variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculado com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.



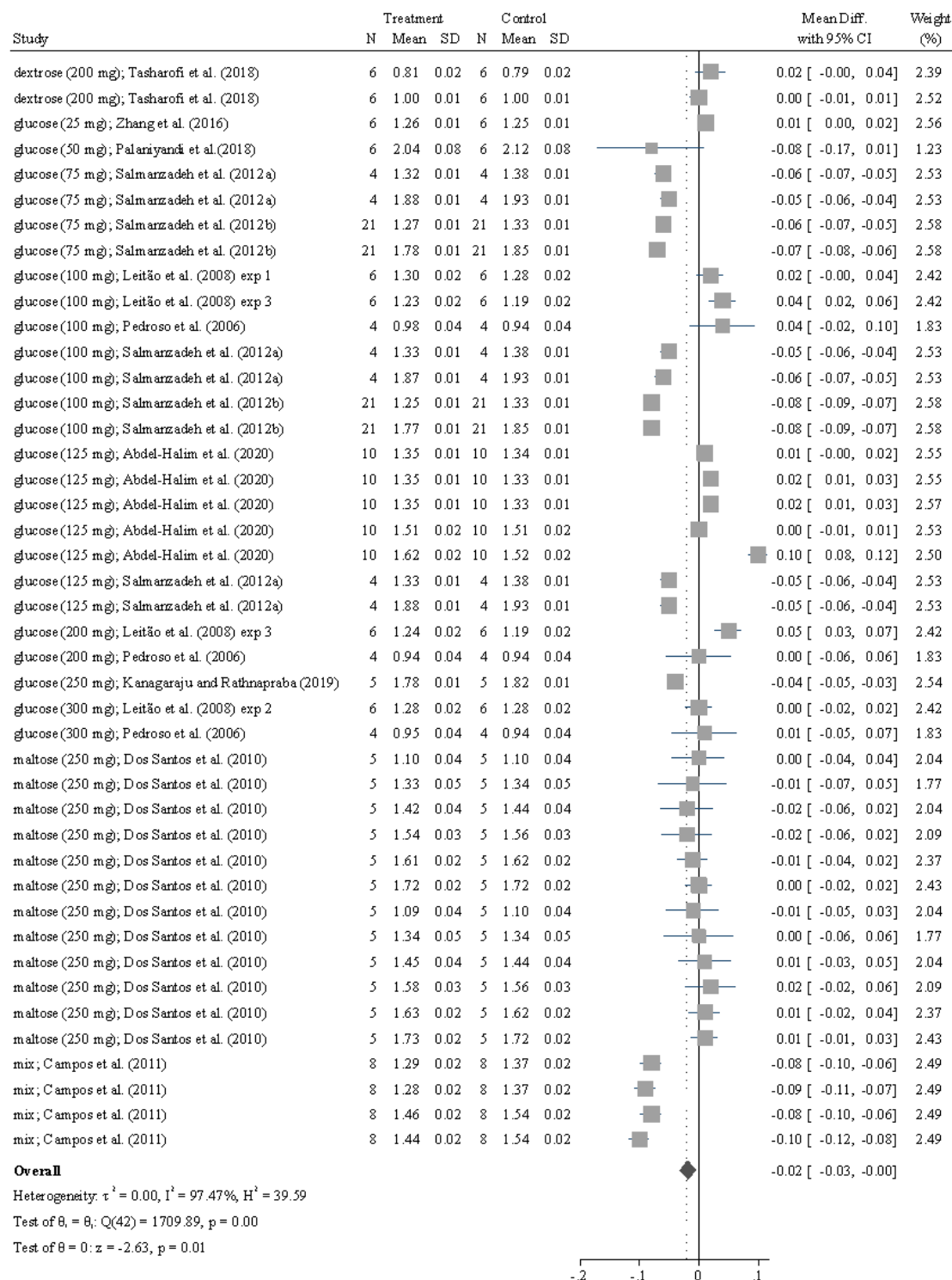
Random-effects REML model

Figura 11 - Variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.



Random-effects REML model

Figura 12 - Variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com carboidratos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com seu respectivo carboidrato e dose (quantidade/ovo) inoculada.



ARTIGO 2: NUTRIÇÃO *IN OVO* COM GLICOSE PARA FRANGOS DE CORTE: UMA METANÁLISE

RESUMO

Objetivo-se avaliar o efeito da inoculação de glicose em ovos fertilizados nas características de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte, através de uma metanálise. A busca dos artigos científicos foi realizada em setembro de 2021, em oito bases de dados, utilizando a seguinte combinação de palavras-chave: *carbohydrate AND "in ovo"*. Foram selecionados apenas artigos que avaliaram os efeitos da inoculação de glicose nos parâmetros de eclosão e/ou desempenho em frangos de corte. A metanálise foi realizada usando o modelo de efeitos aleatórios para calcular o intervalo de confiança (IC) entre as diferenças do grupo inoculado com glicose e o controle placebo. A maioria das doses de glicose, com exceção de 25, 50 e 250 mg/ovo, reduziu ou não teve efeito significativo ($P < 0,05$) sobre a eclodibilidade. Com exceção das doses de 15, 200 e 360 mg/ovo, todos aumentaram ($P < 0,05$) o peso ao nascimento. O ganho de peso após a eclosão melhorou ($P < 0,05$) com as dosagens de 25 a 100 mg/ovo e com 250 e 300 mg/ovo e, o consumo de ração aumentou ($P < 0,05$) com a inoculação das dosagens de 25 e 250 mg/ovo. Já a dose de 75 e 250 mg/ovo tiveram menor taxa de conversão alimentar ($P < 0,05$). Entretanto, as dosagens de 50 e 250 mg/ovo tiveram apenas um estudo analisado. No geral, a inoculação de 75 e 100 mg/ovo de glicose aumentou o peso à eclosão e o ganho de peso pós-nascimento, sem influenciar a eclodibilidade. A dose de 75 mg/ovo resultou ainda em menor taxa de conversão alimentar. A inoculação no líquido amniótico aumentou o ganho de peso e o consumo de ração ($P < 0,05$), mas reduziu a eclodibilidade. A inoculação no albúmen aumentou ($P < 0,05$) o peso à eclosão e o ganho de peso e reduziu ($P < 0,05$) a conversão alimentar, sem alterar a eclodibilidade. A inoculação das soluções entre o 7º e o 10º dia de incubação, utilizando água deionizada como veículo, melhorou ($P < 0,05$) todos os parâmetros de desempenho, sem influenciar ($P > 0,05$) a eclodibilidade. Concluiu-se que a inoculação *in ovo* com glicose influenciou positivamente os parâmetros de desempenho de frangos de corte. Os melhores resultados foram obtidos com a inoculação de 75 e 100 mg/ovo, no albúmen, sendo realizada entre o 7º e 10º dia de incubação e utilizando água deionizada como veículo de diluição.

Palavras chave: eclodibilidade, nutrição *in ovo*, desempenho, inoculação, aves.

Introdução

A avicultura é um dos segmentos da produção animal em constante desenvolvimento. Nos últimos anos, vem crescendo o interesse por novas tecnologias, como as que consistem em fornecer nutrientes aos embriões em desenvolvimento. Diferentes nutrientes foram estudados, como aminoácidos (Salmanzadeh et al., 2020), vitaminas (Fatemi et al., 2021), minerais (Awachat et al., 2020) e carboidratos (Abdel-Halim et al., 2020).

Durante o desenvolvimento embrionário das aves, a energia utilizada pelo embrião vem dos lipídios presentes na gema e das proteínas presentes no albúmen (Santos et al., 2010), já que a glicose não é suficiente para suprir a demanda energética do embrião (Sugino et al., 1996). Durante o estágio final de incubação, a demanda de energia pelo embrião aumenta devido à bicagem da casca. Além disso, o aumento da taxa metabólica diminui a quantidade de oxigênio disponível e, conseqüentemente, o uso de lipídios como fonte de energia (Moran J., 2007). Nesse momento, a dependência dos embriões do metabolismo anaeróbico da glicose aumenta (Oliveira et al., 2008) para suprir a demanda energética necessária a atividade muscular no processo de incubação (Freeman e Vince, 1974). Para manter a glicose sanguínea e aumentar as reservas de glicogênio embrionário, o fígado realiza a gliconeogênese a partir de compostos gliconeogênicos, principalmente os aminoácidos (Sunny e Bequette, 2010).

Considerando que apenas 1% dos nutrientes totais do ovo são carboidratos, e destes apenas 0,3% é glicose livre (Campos et al., 2011), acredita-se que uma grande quantidade de aminoácidos seja convertida em glicose até o final do período de incubação. Assim, o fornecimento *in ovo* de carboidratos pode reduzir a degradação de proteínas, bem como o aproveitamento das reservas de glicogênio (Uni et al., 2005), resultando em pintinhos com maior peso na eclosão (Jia et al., 2011) e melhor desempenho após a eclosão (Neves et al., 2020).

Recentemente, um estudo não publicado (Resende et al., Dados não publicados) revelou que a glicose é o carboidrato mais avaliado, entretanto, os resultados encontrados entre os artigos são bastante controversos. Os autores atribuem esses resultados a diferenças nas características das matrizes, além de diferenças na quantidade de glicose inoculada, idade do embrião na inoculação, local de inoculação e veículo de inoculação. Em alguns estudos, houve um aumento na eclodibilidade e/ou desempenho das aves (Salmanzadeh et al., 2011 (a); 2011 (b); 2012 (a); 2012 (b); Palaniyandi et al., 2018;

Kanagaraju e Ratnaprabha, 2019). Já em outros, não houve diferença significativa na taxa de eclosão ou no desempenho das aves (Ipek et al., 2004; Zhang et al., 2016; Abdel-Halim et al., 2020). Em um estudo de Pedroso et al. (2006) e Leitão et al. (2008) houve diminuição da taxa de eclodibilidade. Portanto, o objetivo desta metanálise foi verificar o efeito da inoculação *in ovo* de glicose nos parâmetros de eclodibilidade e desempenho de frangos de corte e, determinar a melhor forma de sua utilização na inoculação *in ovo*.

Material e métodos

Estratégias de busca

Em setembro de 2021, foi realizada uma busca eletrônica nas seguintes bases de dados: Embase (<https://embase.com/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com.br/>), Scielo (<https://scielo.org/>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Periodicos Capes (<https://www.periodicos.capes.gov.br/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Web of Science (<http://isiknowledge.com/>). A seguinte combinação de palavras-chave foi usada: [*carbohydrate AND "in ovo"*]. No início, nenhum filtro foi aplicado. Porém, devido ao grande número de estudos retornados em algumas bases, a busca pelos termos presentes apenas no título foi feita no Google Scholar, enquanto no Science Direct e no Scopus apenas o termo “in ovo” ficou restrito ao “título, resumo e palavras-chave”. Assim, foram devolvidos 872 estudos em todas as bases utilizadas. Após a análise dos artigos, um total de 13 estudos usando apenas a glicose como tratamento foi selecionado para esta metanálise.

Seleção de artigos

Todos os estudos foram importados para EndNote[®] - X9 (Clarivate Analytics - Filadélfia, EUA, 2018). Em seguida, foram excluídos os duplicados e os estudos que não possuíam caráter experimental. A questão PICO foi definida para comparar os ovos fertilizados de frangos de corte (População) que foram inoculados com glicose (Intervenção) com a solução de placebo (Controle) e, o resultado sendo eclodibilidade, peso na eclosão, ganho de peso, ingestão de ração e taxa de conversão alimentar (Resultado). Assim, com base nas informações contidas no título e no resumo, foram selecionados apenas estudos que avaliaram os efeitos da inoculação de glicose em ovos fertilizados de frangos de corte sobre a eclodibilidade, peso na eclosão, ganho de peso, consumo de ração ou conversão alimentar. Não houve restrições quanto a data e idioma

de publicação. Após a busca e seleção, 13 estudos com 14 ensaios foram selecionados. Após buscas nas referências desses estudos, nenhum outro artigo foi adicionado. O fluxograma de seleção foi preparado seguindo as recomendações dos Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-análises (PRISMA). A Tabela 1 contém as principais características dos artigos selecionados.

Cr terios de qualidade

Ap s a caracteriza o dos estudos, foi realizada uma an lise de qualidade. Os itens pontuados foram escolhidos de acordo com os cr terios estabelecidos por Retes et al. (2018) com adapta es:

1. Tamanho da amostra: estudos que utilizaram mais de 100 ovos por tratamento receberam 2 pontos e quando o n mero de ovos foi inferior a 100 ou quando esse fato n o foi claramente descrito no texto, receberam 1 ponto.
2. Randomiza o: estudos que demonstraram randomiza o receberam 2 pontos e aqueles que n o foram randomizados, ou a randomiza o n o estava claramente no texto, 1 ponto.
3. Volume inoculado: estudos que mencionaram o volume inoculado receberam 2 pontos, e quando esse fato n o foi relatado ou n o estava claramente no texto, 1 ponto.
4. Ve culo de dilui o utilizado: estudos que detalhavam o diluente utilizado recebiam 2 pontos e quando esse fato n o era relatado ou n o estava claramente no texto, 1 ponto.
5. Local de inocula o: estudos que mencionaram o local de inocula o receberam 2 pontos e quando esse fato n o foi relatado ou quando n o foi claramente, 1 ponto.
6. Idade do embri o: estudos que mencionavam a idade do embri o no momento da inocula o recebiam 2 pontos e quando esse fato n o era relatado ou n o era claro, 1 ponto.
7. Idade da matriz: os estudos que caracterizavam a idade das matrizes recebiam 2 pontos e quando este fato n o era evidenciado ou n o com clareza, 1 ponto.
8. Peso do ovo: os estudos que demonstraram o peso do ovo no in cio da incubaq o receberam 2 pontos e os que n o descreveram receberam 1 ponto.
9. Linhagem das aves: os estudos que descreveram a linhagem receberam 2 pontos e os que n o relataram essa informa o receberam 1 ponto.

10. Condições de incubação: os estudos que relataram a temperatura e a umidade durante a incubação receberam 2 pontos e os que não relataram receberam 1 ponto.

A pontuação máxima que um estudo poderia receber era de 20 pontos e a mínima de 10 pontos (Tabela 2).

Metanálise

O banco de dados foi constituído a partir de informações contidas nas seções de materiais e métodos e resultados dos estudos selecionados. A eclodibilidade, o peso ao nascimento, ganho de peso pós-nascimento, o consumo de ração e a taxa de conversão alimentar foram extraídos. A metodologia aplicada para construir o banco de dados seguiu o modelo descrito na literatura (Sauvant et al., 2008).

Os grupos comparados foram o grupo controle (ovos inoculados apenas com o veículo - placebo) e o grupo inoculado com glicose. Em cada comparação, foram selecionados o tamanho da amostra (n), a média e o erro padrão (SE). Nos casos em que os valores SE não estavam disponíveis, o desvio padrão (SD) foi usado para a estimativa, usando a equação $SE = SD \times \sqrt{n}$, onde n = número de repetições, ou o coeficiente de variação (CV), usando a equação $SE = (CV \times média) / (\sqrt{n} \times 100)$. Nos casos em que SD e CV foram omitidos, foi utilizada a média do SE dos outros estudos (Idris e Robertson, 2009).

As informações extraídas de cada estudo foram registradas como dados brutos (conforme apresentado nos artigos originais), exceto para ganho de peso e consumo de ração, cujos valores foram padronizados em g/dia. Três categorias foram utilizadas para avaliar o número de ovos por tratamento (estudos que usaram entre 25 e 50 ovos, estudos que usaram entre 51 e 100 ovos e estudos que usaram mais de 100 ovos por tratamento), a idade do embrião na inoculação (inoculados entre o 7º e o 10º dia e estudos que inocularam entre 15º ao 18º dia) e qualidade da evidência (alta evidência - estudos que receberam entre 17 e 20 pontos nos critérios de qualidade; evidência moderada - estudos que receberam entre 13 e 16 pontos e baixa evidência - estudos que receberam entre 10 e 12 pontos). Os critérios de avaliação das evidências foram estabelecidos conforme sugerido pelo sistema GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluations*).

Os dados foram analisados usando o software STATA 16 (*Stata Corp, College Station Tex*). A diferença média padrão (SMD) entre o grupo inoculado com glicose e o grupo controle foi considerada na análise. O modelo de efeito aleatório (REM) foi

utilizado para calcular o SMD, sendo o intervalo de confiança de 95% (IC95%) apresentado em *Forest Plots*. Os dados foram então particionados em subanálises de acordo com as seguintes variáveis explicativas: quantidade de glicose inoculada (mg/ovo); classificação do artigo segundo critérios de qualidade de evidência (evidência alta, intermediária e baixa); linhagem; local de inoculação; veículo de inoculação; idade embrionária de inoculação; número de ovos/tratamento; idade das aves em que o desempenho foi avaliado e o sexo. O viés de publicação foi avaliado usando o gráfico de *Funnel Plot* e o teste de Egger e de Begg.

Resultados

Características dos estudos selecionados

Um total de 14 ensaios descritos em 13 artigos foi considerado nesta revisão sistemática e metanálise. Em todos os artigos foi possível identificar o número de ovos inoculados em cada tratamento. Mais de 100 ovos/tratamento foram usados em 11 ensaios (Tabela 2). Em 13 ensaios, os ovos foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos.

A linhagem Cobb foi usada em 8 ensaios, Ross em 3 e Arbor Acres em 2 ensaios. Em 1 artigo a linhagem não foi identificada. A idade da matriz variou entre 27 e 70 semanas. Apenas 1 estudo não relatou a idade da matriz. O peso do ovo variou de 54 a 70g em 11 estudos.

Em relação à inoculação, a maioria dos estudos (10 no total) inoculou no terço final da incubação (entre 16 e 18 dias). Em 4 artigos, a inoculação foi realizada durante o primeiro terço de incubação (aos 7 dias). O albúmen (5 estudos) e líquido amniótico (6 estudos) foram os principais locais de inoculação, seguidos pela cavidade alantóide (2 estudos) e a câmara de ar (1 estudos). O volume de inoculação variou de 0,4 mL/ovo a 1,2 mL/ovo, sendo a solução salina o principal veículo de diluição utilizado (7 estudos). A temperatura ($37,64 \pm 0,16$) e/ou umidade ($56,04 \pm 2,32$) durante a incubação foram relatados em 11 ensaios.

O peso ao nascer foi relatado em todos os estudos. A eclodibilidade foi relatada em 13 e o desempenho pós-nascimento em 10 estudos. De acordo com os critérios de qualidade da descrição metodológica, 6 estudos receberam 20 pontos (Ipek et al., 2004; Leitão et al. 2008, exp.1; Salmanzadeh, 2012a; Salmanzadeh et al., 2012b; Salmanzadeh et al., 2011a ; Zhang et al., 2016).

Principais resultados dos ensaios avaliados

A eclodibilidade aumentou em 4 ensaios (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Palaniyandi et al., 2018; Salmanzadeh et al., 2012b; Salmanzadeh et al., 2011a) e reduziu em 3 (Leitão et al., 2008, exp.1; Pedroso et al., 2006; Zhai et al., 2011b). Em 6 estudos, a eclodibilidade não foi influenciada pela inoculação *in ovo* de glicose.

Em 5 ensaios houve um aumento no peso à eclosão (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh, 2012a; 2012b; 2011a; 2011b). Em 8 ensaios, o peso ao nascer não foi influenciado pela inoculação *in ovo* de glicose. Apenas 1 estudo observou efeito negativo da inoculação de glicose sobre o peso ao nascimento (Leitão et al., 2008, exp. 2).

O ganho de peso pós-nascimento foi maior em 4 ensaios (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh et al., 2011b; Salmanzadeh, 2012a; Salmanzadeh et al., 2012b). Em 6 ensaios, nenhuma diferença significativa foi observada. O consumo de ração aumentou em 2 ensaios (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh, 2012a) e em 6 ensaios não houve efeito. Em nenhum estudo houve efeito negativo no ganho de peso e/ou no consumo de ração. Em 3 ensaios, a taxa de conversão alimentar foi maior (Kanagaraju e Rathnapraba, 2019; Salmanzadeh, 2012a); Salmanzadeh et al., 2012b) e em 6 estudos, nenhum efeito foi observado.

Metanálise

Eclodibilidade

De 14 ensaios, 22 comparações entre inoculação de glicose e controle (solução de placebo) foram analisadas. A análise global mostrou que a inoculação de glicose reduziu ($P < 0,05$) a eclodibilidade (SMD = -4,31, IC_{95%} = -8,57 a -0,04). Esse resultado foi confirmado em estudos classificados como de alta qualidade metodológica (Figura 2).

A análise dos subgrupos mostrou que a inoculação de 25, 50 e 250 mg/ovo de glicose aumentou a eclodibilidade ($P < 0,01$), embora apenas uma observação de cada uma dessas substâncias tenha sido identificada (Figura 2). A inoculação de 5, 10, 15, 300 e 360 mg/ovo de glicose reduziu a eclodibilidade ($P < 0,01$). A inoculação entre 75 e 200 mg/ovo não influenciou ($P > 0,05$) a eclodibilidade.

A eclodibilidade não foi influenciada ($P > 0,05$) pela linhagem. A inoculação na câmara de ar diminuiu a eclodibilidade (SMD = -0,60, IC_{95%} = -0,90 a -0,30; $P < 0,01$), bem como quando foi inoculada em líquido amniótico (SMD = -12,61, IC_{95%} = -22,95 a

- 2,28; $P=0,02$). A inoculação em albúmen ou cavidade alantóide não influenciou ($P>0,05$) a eclodibilidade.

A eclodibilidade mais baixa foi evidente ($P<0,05$) quando a solução salina foi usada como veículo de diluição (10 comparações). A eclodibilidade não foi influenciada quando a glicose foi inoculada com água deionizada (SMD = 1,65, IC_{95%} = -0,48 a 3,78; $P=0,13$) ou estéril (SMD = -4,16, IC_{95%} = -9,01 a 0,68; $P=0,09$).

A inoculação entre 15 e 18 dias de incubação reduziu ($P<0,05$) a eclodibilidade (15 comparações), enquanto nenhuma diferença significativa ($P>0,05$) foi observada quando a glicose foi inoculada aos 7 dias de incubação.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P=0,68$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Peso à eclosão

Um total de 25 comparações entre inoculação de glicose e controle (solução de placebo) foi analisada (Figura 9). A análise global mostrou que a inoculação de glicose aumentou ($P=0,05$) o peso ao nascimento das aves, embora estudos classificados como de alta qualidade não tenham demonstrado ($P<0,07$) esses resultados. A análise de subgrupo mostrou que a dosagem de até 250 mg/ovo de glicose aumentou ($P<0,01$) o peso ao nascimento. Apenas uma observação com 15 e 200, assim como 300 e 360 mg/ovo diminuiu ($P<0,05$) o peso ao nascimento.

A inoculação de glicose aumentou ($P<0,01$) o peso de incubação apenas quando a linhagem Arbor Acres foi usada (apenas 2 observações). A inoculação da glicose aumentou ($P<0,01$) o peso de eclosão somente quando foi inoculada no albúmen (11 observações), utilizando água deionizada como veículo. O peso de eclosão só aumentou quando a glicose foi inoculada nos 7 dias de incubação.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P<0,01$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Ganho de peso

Um total de 28 comparações entre inoculação de glicose e controle (solução de placebo) foi analisada (Figura 10). A análise global mostrou que a inoculação *in ovo* de glicose aumentou ($P<0,01$) o ganho de peso pós-eclosão das aves (SMD = 1,03, IC_{95%} = 0,66 a 1,41). A análise de subgrupo mostrou que o efeito da glicose no ganho de peso foi positivo ($P<0,01$) quando inoculado até 100 mg/ovo (8 comparações) (Figura 4).

Resultados positivos foram obtidos ($P < 0,01$) somente quando a linhagem Cobb foi usada e quando as soluções foram inoculadas no albúmen (18 comparações) ou âmnio (6 comparações), usando água deionizada como veículo de diluição (13 comparações) (Figura 4). Maior ganho de peso só foi observado ($P < 0,01$) quando as soluções foram inoculadas entre 7 e 10 dias (13 comparações).

Em relação ao sexo das aves, observou-se melhora quando avaliados lotes de machos ou mistos ($P < 0,01$). Nenhum estudo avaliou o efeito da inoculação *in ovo* de glicose apenas com fêmeas. Os melhores resultados podem ser observados durante 1 a 21 dias ou após 36 dias de idade.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P = 0,11$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Consumo de ração

Vinte e quatro comparações entre inoculação de glicose e controle (solução de placebo) foram analisadas. A análise global mostrou que a inoculação *in ovo* de glicose não influenciou ($P > 0,05$) o consumo de ração pelas aves ($SMD = 1,19$, $IC_{95\%} = -0,15$ a $2,52$). No entanto, na análise de subgrupos, foi observado que houve um ligeiro aumento ($P < 0,01$) no consumo de ração quando utilizado a dose de 25 ou 250 mg/ovo, no entanto, apenas 1 estudo de cada dose foi avaliado. Além disso, houve aumento no consumo de ração quando a linhagem Cobb foi utilizada (18 comparações ($SMD = 0,67$; $IC_{95\%} = 0,28$ a $1,06$)) (Figura 5). O aumento no consumo de ração também foi observado ($P < 0,01$) quando o líquido amniótico foi usado como local de inoculação (5 comparações) e quando a água deionizada foi usada como veículo de diluição (10 comparações). Além disso, houve aumento ($P < 0,01$) no consumo de ração quando a glicose foi inoculada entre o 7º e o 10º dia de incubação. Maior consumo de ração foi observado apenas nos machos avaliados a partir dos 36 dias de idade.

Distribuição simétrica pode ser vista ($P = 0,05$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7).

Conversão alimentar

Um total de 25 comparações entre inoculação de glicose e controle (solução de placebo) foi analisado. A análise global mostrou que a inoculação *in ovo* de glicose não influenciou ($P > 0,05$) a conversão alimentar após a eclosão. No entanto, a análise dos subgrupos mostrou que houve uma diminuição ($P < 0,01$) na conversão alimentar quando

foram inoculados 75 mg/ovo de glicose (4 comparações) (Figura 6). Além disso, a menor conversão alimentar foi evidente ($P < 0,02$) quando a linhagem Cobb foi utilizada (18 comparações); quando o albúmen foi o local de inoculação (15 comparações) e a água desionizada foi o veículo de diluição (10 comparações). Menor conversão alimentar também foi observada ($P < 0,01$) quando as soluções foram inoculadas entre 7 e 10 dias de incubação (10 comparações) e os parâmetros foram avaliados após 36 dias de idade das aves.

Ampla distribuição assimétrica pode ser observada ($P < 0,05$) no gráfico de *Funnel Plot* (Figura 7). A Tabela 4 apresenta um resumo dos principais resultados obtidos com esta metanálise, considerando a dose de glicose e a metodologia *in ovo* utilizada.

Discussão

Um dos principais objetivos da nutrição *in ovo* é melhorar o desempenho pós-nascimento sem prejudicar a eclodibilidade. Em um sistema de incubação, a eclodibilidade é um dos principais parâmetros que avaliam a eficiência da produção. No entanto, os resultados com inoculação *in ovo* de glicose variaram amplamente entre os estudos. Resultados positivos (Palaniyandi et al., 2018; Salmanzadeh et al., 2011a; e Salmanzadeh et al., 2012), não significativos (Abdel-Halim et al., 2020; Ipek et al., 2004; Leitão et al., 2008 exp .2; Salmanzadeh, 2012a; Zhai et al., 2011a; e Zhang et al., 2016) e até mesmo resultados negativos (Leitão et al., 2008 exp.1; Pedroso et al., 2006; e Zhai et al., 2011b) são observados na literatura. Por isso, a necessidade de padronizar a técnica, dependendo do tipo de substância e metodologia utilizada.

Na presente metanálise, os melhores resultados foram obtidos com a inoculação de 75 e 100 mg/ovo, devido ao aumento no peso à eclosão e no ganho de peso, sem influenciar a eclodibilidade. A dose de 75 mg/ovo ainda resultou em menor taxa de conversão alimentar, o que demonstra ser uma dose adequada para a inoculação *in ovo* buscando aumentar o ganho de peso de frangos de corte. Outras doses como a de 50 e 250 mg/ovo tiveram resultados positivos, no entanto, apenas um estudo foi considerado para cada dosagem.

A diminuição da eclodibilidade relatada por Leitão et al. (Exp.1 2008), Pedroso et al. (2006) e Zhai et al. (2011b) possivelmente, conforme explicado por Tasharofi et al. (2018), ocorreu devido a uma sobrecarga do metabolismo energético causada pelo excesso de carboidratos, uma vez que as concentrações foram de 300 e 360 mg/ovo, respectivamente. Além disso, o volume mais alto inoculado entre os estudos avaliados foi

de 1,2 mL, correspondente ao relatado por Zhai et al (2011b), o qual utilizou a dose de 360 mg/ovo. O volume inoculado também pode reduzir a eclodibilidade, pois o aumento da umidade no interior dos ovos pode fazer com que os pintinhos fiquem aderidos à membrana interna, dificultando o processo de incubação (Campos et al., 2011). Também foi relatado diminuição da eclodibilidade nas doses de 5, 10 e 15 mg/ovo. No entanto, apenas uma comparação para cada uma dessas doses foi avaliada nesse estudo. Além disso, a inoculação dessas dosagens foi realizada diretamente na câmara de ar no 18º dia de incubação, o que de acordo com alguns autores pode aumentar a mortalidade embrionária e conseqüentemente diminuir a eclodibilidade (Ohta et al., 1999; Leitão et al., 2010). A câmara de ar tem importante função para a respiração do embrião, demonstrando que a redução da eclodibilidade pode ter ocorrido devido à via de aplicação e não pela dosagem de glicose inoculada.

O aumento do peso ao nascimento pode ser o resultado de um aumento nos estoques de glicogênio hepático, bem como uma redução na gliconeogênese proteica (Uni et al., 2005). Um aumento no peso inicial do pintinho é de interesse da indústria avícola, pois está relacionado ao peso final do frango (Salmanzadeh, 2012b). Por outro lado, esse maior peso do pintinho pode estar associado a uma maior quantidade de gema residual (Zhai et al., 2011c) decorrente do menor uso de seu conteúdo pelo embrião.

Sabe-se que a presença de nutrientes no trato gastrointestinal (TGI) estimula o desenvolvimento das vilosidades intestinais, o que pode levar a uma maior digestão e absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, favorecer o desempenho das aves. Kanagaraju e Rathnapraba (2019), por exemplo, relataram melhorias na morfologia do intestino delgado de frangos ao inocular glicose no âmnio aos 18 dias de incubação. E, de fato, um dos objetivos da nutrição *in ovo* é estimular o TGI dos pintinhos no início da incubação e adaptá-los à alimentação pós-nascimento. E foi nesse sentido que Tako et al. (2004) associaram o maior ganho de peso de frangos inoculados *in ovo* com carboidratos, aos 10 dias de idade, ao maior desenvolvimento intestinal e também à maior expressão enzimática dessas aves na eclosão. Mas, conforme relatado por Retes et al. (2017) a inoculação *in ovo* de carboidratos, incluindo glicose, tem pouca influência durante a fase de crescimento de frangos.

Com base nos resultados obtidos nesta metanálise, o albúmen pode ser considerado o melhor local para inoculação, o que corrobora com Retes et al. (2017), no entanto, alguns ensaios afirmam que a inoculação no albúmen sob a câmara de ar pode afetar a respiração do embrião, levando à morte (Salmanzadeh et al., 2012). A idade de

inoculação com os melhores resultados foram obtidos com a inoculação entre o 7º e 10º dias de incubação. Esse resultado pode estar associado ao maior desenvolvimento das fibras musculares durante o desenvolvimento embrionário, pois a glicose é capaz de estimular a liberação de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) (Duclos et al., 1993; Bhanja et al., 2015). De acordo com Lu et al. (2007), o IGF aumenta significativamente nos primeiros dois terços da incubação e cai rapidamente entre o 14º e o 20º dia de incubação. Isso explica porque a inoculação *in ovo* de glicose no terço médio da incubação (entre o 7º e o 10º dia) dá melhores resultados do que quando inoculada no terço final (entre o 15º e o 18º dia).

Conclusão

A inoculação *in ovo* de glicose teve influência positiva sobre os parâmetros de desempenho de frangos de corte. Em geral, os melhores resultados foram obtidos com a inoculação de 75 e 100 mg/ovo, no albúmen, sendo realizada entre o 7º e 10º dia de incubação e utilizando água deionizada como veículo de diluição.

Referências

- Abdel-Halim, A., Mohamed, F.R., Elmenawey, M.A., Gharib, H.B., 2020. Impact of in ovo injection of folic acid and glucose on hatchability and posthatching performance of broiler chickens. *J. Vet.* 10, 481-491.
- Awachat, V.B., Elangovan, A.V., Sogunle, O.M., David, C.G., Ghosh, J., Gowda, S.N.K., Bhanja, S.K., Majumdar, S., 2020. Influence of in ovo and pre-starter zinc and copper supplementation on growth performance and gastrointestinal tract development of broiler chickens. *Acta Agric. Slov.* 115, 237-245.
- Campos, A.M.A., Rostagno, H.S., Gomes, P.C., Da Silva, E.A., Albino, L.F.T., Nogueira, E.T., 2011. Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 1712-1717.
- Fatemi, S.A., Alqhtani, A.H., Elliott, K.E.C., Bello, A., Levy, A.W., Peebles, E.D., 2021. Improvement in the performance and inflammatory reaction of Ross 708 broilers in response to the in ovo injection of 25-hydroxyvitamin D3. *Poult. Sci.* 100, 138-146.
- Idris, N.R.N., Robertson, C., 2009. The effects of imputing the missing standard deviations on the standard error of meta analysis estimates. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*® 38, 513-526.
- Ipek, A., Sahan, U., Yilmaz, B. 2004. The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. *Arch. Geflugelk.* 68, 132-135.
- Jia, C.L., Wei, Z.H., Yu, W., Wang, X.Q., Yu, F., 2011. Effect of in-ovo feeding maltose on the embryo growth and intestine development of broiler chicken. *Indian J. Anim. Sci.* 81, 503-506.
- Kanagaraju, P., Rathnapraba, S., 2019. Effect of in-ovo injection of glucose and egg white protein on the production performance and gut histomorphometry of broiler chicken. *Ind. J. Anim. Res.* 53, 675-679.
- Leitão, R.A., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J.H., Pedroso, A.A., Chaves, L.S., 2008. Inoculation of glucose in ovo of broiler breeders/eggs: Incubation parameters and initial performance. *Cienc. Anim. Bras.* 9, 847-855.
- Mohammed, R.J., Al-Hassani, D.H., 2020. The effect of early feeding by in ovo injection and post hatch in hatchery on some hatching traits, liver glycogen and duodenal villi of broiler chickens. *Biochem. Cell. Arch.* 20, 4003-4007.
- Neves, D.G.D., Retes, P.L., Alves, V.V., Pereira, R.S.G., Bueno, Y.D.C.; Alvarenga, R.R., Zangeronimo, M.G., 2020. In ovo injection with glycerol and insulin-like growth factor

- (IGF-I): hatchability, intestinal morphometry, performance, and carcass characteristics of broilers. *Arch. Anim. Nutr.* 74, 325-342.
- Palaniyandi, K., Mannu, B., Shunmugan, R., Sambandam, R., Harishchandra, S.S., 2018. Effect of In-ovo injection of Glucose, Lysine, Threonine and β -hydroxy- β -methylbutarate (HMB) on the Morphometry of Digestive Organs in Commercial Broilers. *Livest. Sci.* 8, 117-183.
- Pedroso, A.A., Chaves, L.S., Lopes, K.L.A.M., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J.H., 2006. Nutrient inoculation in eggs from heavy breeders. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 2018-2026.
- Retes, P.L., Clemente, A.H.S., Neves, D.G., Espósito, M., Makiyama, L., Alvarenga, R.R., Pereira, L.J., Zangeronimo, M.G., 2018. In ovo feeding of carbohydrates for broilers - a systematic review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102, 361-369.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnejad, Y., Shahryar, H.A., Gorbani, A., Oskuei, H.R., 2011 (a). The Effects of in ovo Glucose Administration on Hatching Results and Subsequent Blood Glucose Concentration in Newly-Hatched Chicks. *J. Appl. Biol. Sci.* 5, 21-22.
- Salmanzadeh, M., Nezhad, Y.E., Shahryar, H.A., Ashrafi, S., Moghaddam, P.P., Lotfi, A., 2011 (b). The effects of *in ovo* administration of glucose on carcass characterizes of broiler chickens. *Glob. Vet.* 6, 429-432.
- Salmanzadeh, M., 2012 (a). The Effects of In-Ovo Injection of Glucose on Hatchability, Hatching Weight and Subsequent Performance of Newly-Hatched Chicks. *Br. Poult. Sci.* 14, 71-158.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Aghdam Shahryar, H., Beheshti, R., 2012 (b). 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. Geflügel.* 76, 277-284.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Aghdam Shahryar, H., Ghiasighaleh Kandi, J., 2020. The effects of in ovo administration of glutamine on hatchability, subsequent performance, digestive enzyme activities, immune response and some of blood parameters in broiler chickens. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 10, 535-545.
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.-J., St-Pierre, N.R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal* 2, 1203-1214.
- Tako, E., Ferket, P.R., Uni, Z., 2004. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and betahydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poult. Sci.* 83, 2023-2028.

- Tasharofi, S., Mohammad, F., Amiri, N., Nazem, M.N., 2018. Effects of intra-yolk-sac injection of dextrose and albumin on performance, jejunum morphology, liver and pectoral muscle glycogen and some serum metabolites of broilers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102, 917-923.
- Uni, Z., Ferket, R.P., Tako, E., Kedar, O., 2005. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poult. Sci.* 84, 764-770.
- Zhai, W., Bennett, L.W., Gerard, P.D., Pulikanti, R., Peebles, E.D., 2011 (a). Effects of in ovo injection of carbohydrates on somatic characteristics and liver nutrient profiles of broiler embryos and hatchlings. *Poult. Sci.* 90, 2681-2688.
- Zhai, W., Gerard, P.D., Pulikanti, R., Peebles, E.D., 2011 (b). Effects of in ovo injection of carbohydrates on embryonic metabolism, hatchability, and subsequent somatic characteristics of broiler hatchlings. *Poult. Sci.* 90, 2134-2143.
- Zhai, W., Rowe, D.E., Peebles, E.D., 2011 (c). Effects of commercial in ovo injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. *Poult. Sci.* 90, 1295-1301.
- Zhang, L., Zhu, X.D., Wang, X.F., Li, J.L., Gao, F., Zhou, G.H., 2016. Individual and combined effects of in-ovo injection of creatine monohydrate and glucose on somatic characteristics, energy status, and posthatch performance of broiler embryos and hatchlings. *Poult. Sci.* 95, 2352-2359.

Tabela 1 - Características dos estudos selecionados.

References	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Abdel-Halim et al. (2020)	Egito	AA	55	NI	150	17	AL	0.5	SS	H, WH e P
Ipek et al. (2004)	Alemanha	R	70	68-70	324	18	CA	0.5	SW	H e WH
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	India	C	34	68± 1	100	18	AF	0.5	SS	H, WH e P
Leitão et al. (2008) exp.1	Brasil	C	29	54.7 ± 2.4	120	16	AC	0.6	SW	H, WH e P
Leitão et al. (2008) exp.2	Brasil	C	27	54.07	96	16	AC	0.6	SS	H, WH e P
Palaniyandi et al. (2018)	India	NI	NI	NI	90	18	AF	0.5	SS	H, WH e P
Pedroso et al. (2006)	Brasil	C	35	NI	130	16	AF	0.5	SS	H, WH e P
Salmanzadeh et al. (2011a)	Iran	C	27	60±1	150	7	AL	0.5	DW	H e WH
Salmanzadeh et al. (2011b)	Iran	C	28	60±1	144	7	AL	0.5	DW	WH e P
Salmanzadeh (2012a)	Iran	C	28	60±1	144	7	AL	0.5	DW	H, WH e P
Salmanzadeh et al. (2012b)	Iran	C	29	60±1	108	7	AL	0.5	DW	H, WH e P
Zhai et al. (2011a)	USA	R	34	59±5.9	288	18	AF	0.4	V	H e WH
Zhai et al. (2011b)	USA	R	32	58±5.8	96	18.5	AF	1.2	SS	H e WH
Zhang et al. (2016)	China	AA	38-40	58-62	110	17.5	AF	0.4	SS	H, WH e P

1) País de teste; **2)** Linhagem (C-Cobb; R-Ross; AA-Arbor Acres); **3)** Idade da matriz (semanas); **4)** Peso do ovo (gramas); **5)** Total de ovos por tratamento; **6)** Idade de inoculação (dias); **7)** Local de inoculação (AL-albúmen; AF-líquido amniótico; CA-câmara de ar; AC-cavidade alantóide); **8)** Volume inoculado por ovo (mL); **9)** Veículo (SS-solução salina; SW-água esterilizada; DW-água deionizada; V-diluyente de vacina); **10)** Variáveis (H-eclodibilidade; WH-peso na eclodibilidade; P-desempenho). NI-não informado.

Tabela 2 - Pontuação dos artigos de acordo com os critérios de avaliação da qualidade das evidências.

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
Abdel-Halim et al. (2020)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	19
Ipek et al. (2004)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	19
Leitão et al. (2008) exp.1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Leitão et al. (2008) exp.2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	19
Palaniyandi et al. (2018)	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	16
Pedroso et al. (2006)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	19
Salmanzadeh et al. (2011a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Salmanzadeh et al. (2011b)	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	19
Salmanzadeh (2012a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Salmanzadeh et al. (2012b)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Zhai et al. (2011a)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	19
Zhai et al. (2011b)	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	18
Zhang et al. (2016)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20

1. Tamanho da amostra: mais de 100 ovos por tratamento (2) menos de 100 ovos (1).
2. Randomização: estudos que demonstraram randomização (2) não (1).
3. Volume inoculado: volume relatado (2) e se não relatado (1).
4. Veículo de diluição: veículo de diluição relatado (2) e caso não seja relatado (1).
5. Local de inoculação: local de inoculação relatado (2) e caso não seja relatado (1).
6. Idade do embrião: idade do embrião no momento da aplicação relatada (2) e se não relatada (1)
7. Idade da matriz: idade da matriz informada (2) e não informada (1).
8. Peso do ovo: peso do ovo no início da incubação relatado (2) e se não relatado (1)
9. Linhagem: linhagem descrita (2) se não descrita (1)
10. Condições de incubação: temperatura e/ou umidade durante a incubação relatada (2) e se não relatada (1)

Tabela 3 - Principais resultados dos estudos avaliados.

Referências	Eclodibilidade	Peso á eclosão	GP	CR	CA
Abdel-Halim et al. (2020)	NS	NS	NS	NS	NS
Ipek et al. (2004)	NS	NS	NA	NA	NA
Kanagaraju and Rathnapraba (2019)	+	+	+	+	+
Leitão et al. (2008) exp.1	-	NS	NS	NS	NS
Leitão et al. (2008) exp.2	NS	-	NS	NS	NS
Palaniyandi et al. (2018)	+	NS	NS	NA	NS
Pedroso et al. (2006)	-	NS	NS	NS	NS
Salmanzadeh et al. (2011a)	+	+	NA	NA	NA
Salmanzadeh et al. (2011b)	NA	+	+	NA	NA
Salmanzadeh (2012a)	NS	+	+	+	+
Salmanzadeh et al. (2012b)	+	+	+	NS	+
Zhai et al. (2011a)	NS	NS	NA	NA	NA
Zhai et al. (2011b)	-	NS	NA	NA	NA
Zhang et al. (2016)	NS	NS	NS	NS	NS

GP: Ganho de peso; CR: Consumo de ração; CA: Taxa de conversão alimentar; NS: não significativo; NA: não avaliado; (-): diminuiu; (+): aumentou.

Tabela 4 - Resumo dos principais resultados da metanálise, considerando as doses de glicose inoculadas *in ovo* e a metodologia utilizada.

	Eclodibilidade	Peso à eclosão	Ganho de peso	Consumo de ração	Conversão alimentar
Glucose doses (mg/egg)					
5	-	+	NA	NA	NA
10	-	+	NA	NA	NA
15	-	-	NA	NA	NA
25	+	+	+	+	+
50	+	+	+	NS	NS
75	NS	+	+	NS	-
100	NS	+	+	NS	NS
125	NS	+	NS	NS	NS
200	NS	-	NS	NS	NS
250	+	+	+	+	-
300	-	-	+	NS	NS
360	-	-	NA	NA	NA
Glicose em geral	-	+	+	NS	NS
Inoculation site					
Câmara de ar	-	NS	NA	NA	NA
Albúmen	NS	+	+	NS	-
Líquido amniótico	-	NS	+	+	NS
Cavidade alantóide	NS	NS	NS	NS	+
Inoculation vehicle					
Água deionizada	NS	+	+	+	-
Solução salina	-	NS	NS	NS	NS
Água esterilizada	NS	NS	NS	NS	NS
Inoculation age					
7 a 10 dias	NS	+	+	+	-
15 a 18 dias	-	NS	NS	NS	NS

NS: não significativo; (-): diminuiu; (+): aumentou; NA: não avaliado.

Figura 1 - Fluxograma da busca e seleção dos artigos a partir da seguinte combinação de palavras: (*carbohydrate AND "in ovo"*) e a seguir estudos selecionados com inoculação apenas de glicose *in ovo*. Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação desta revisão.

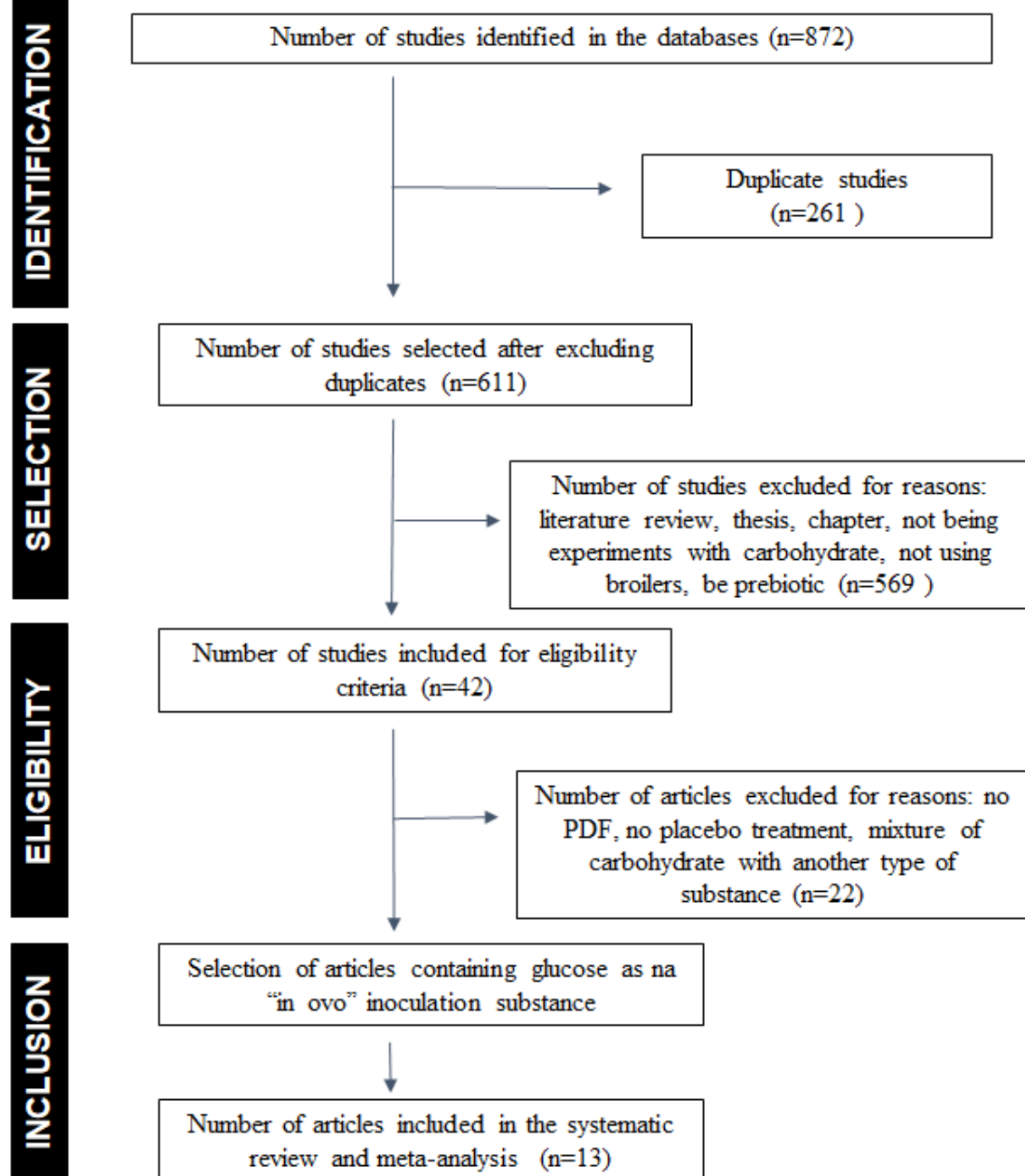


Figure 2 - Resumo da variação (Δ) na eclodibilidade (%) de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação com veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.

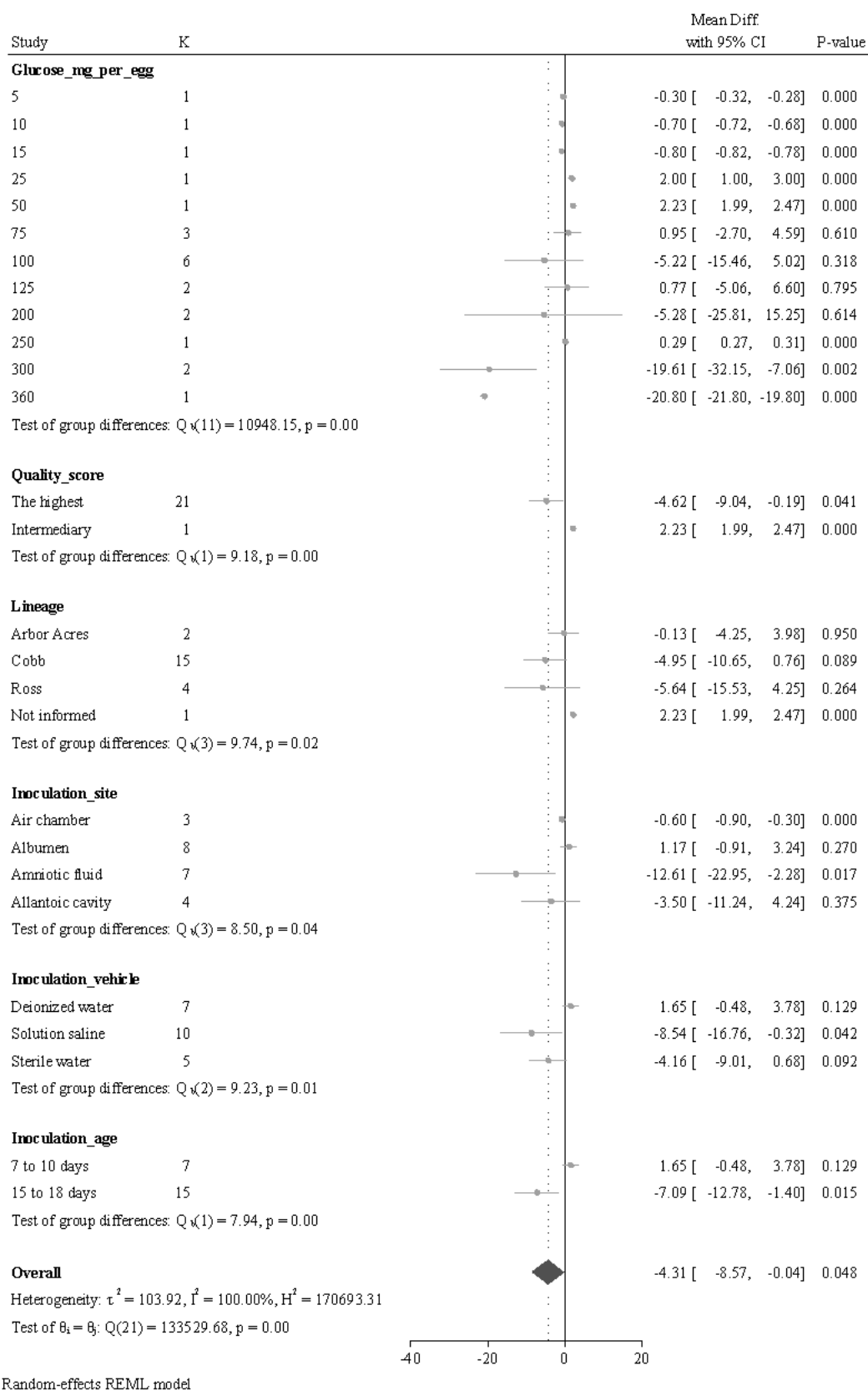
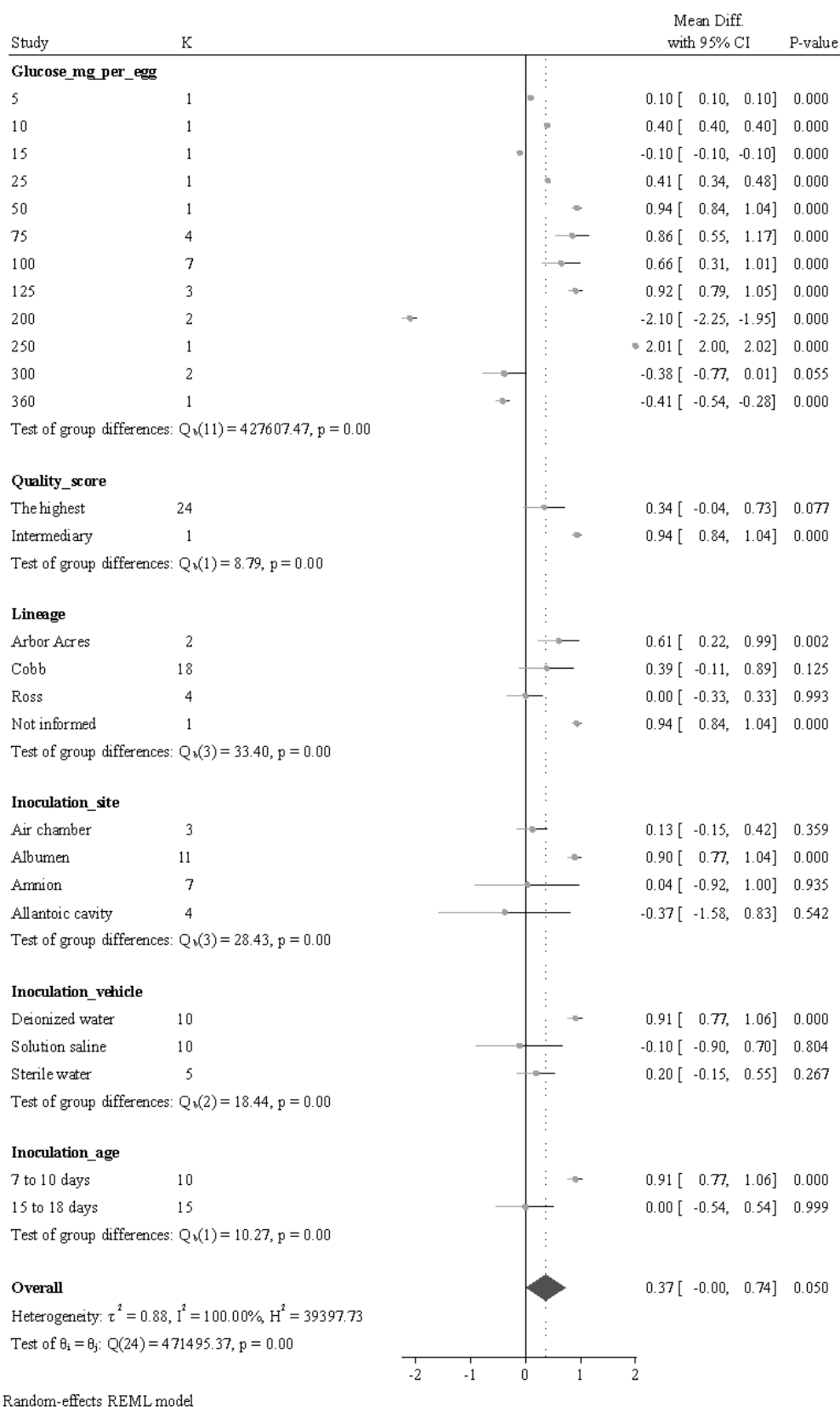


Figure 3 - Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de frangos de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação e idade embrionária de inoculação.



Random-effects REML model

Figure 4 - Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.

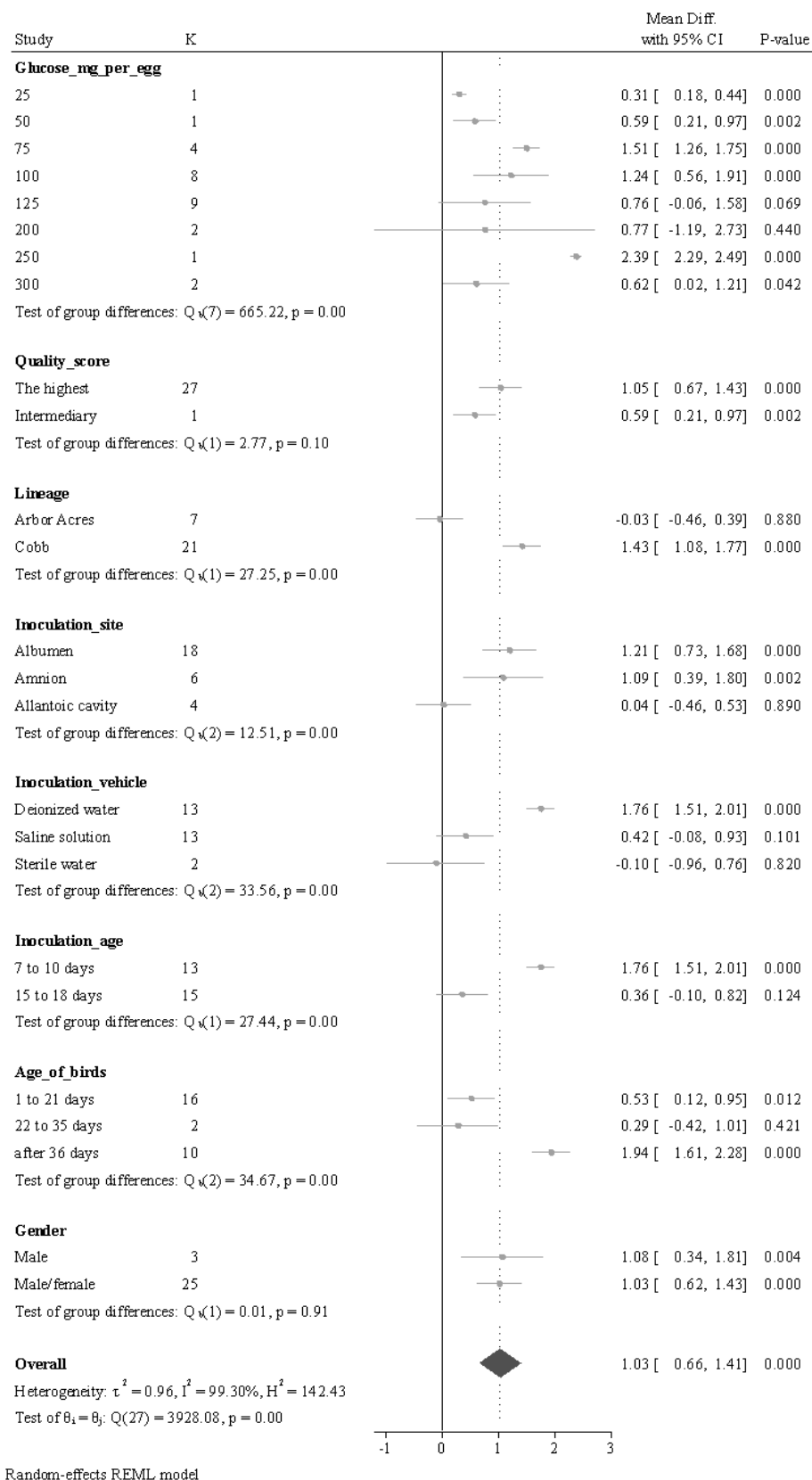


Figure 5 - Resumo da variação (Δ) do consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.

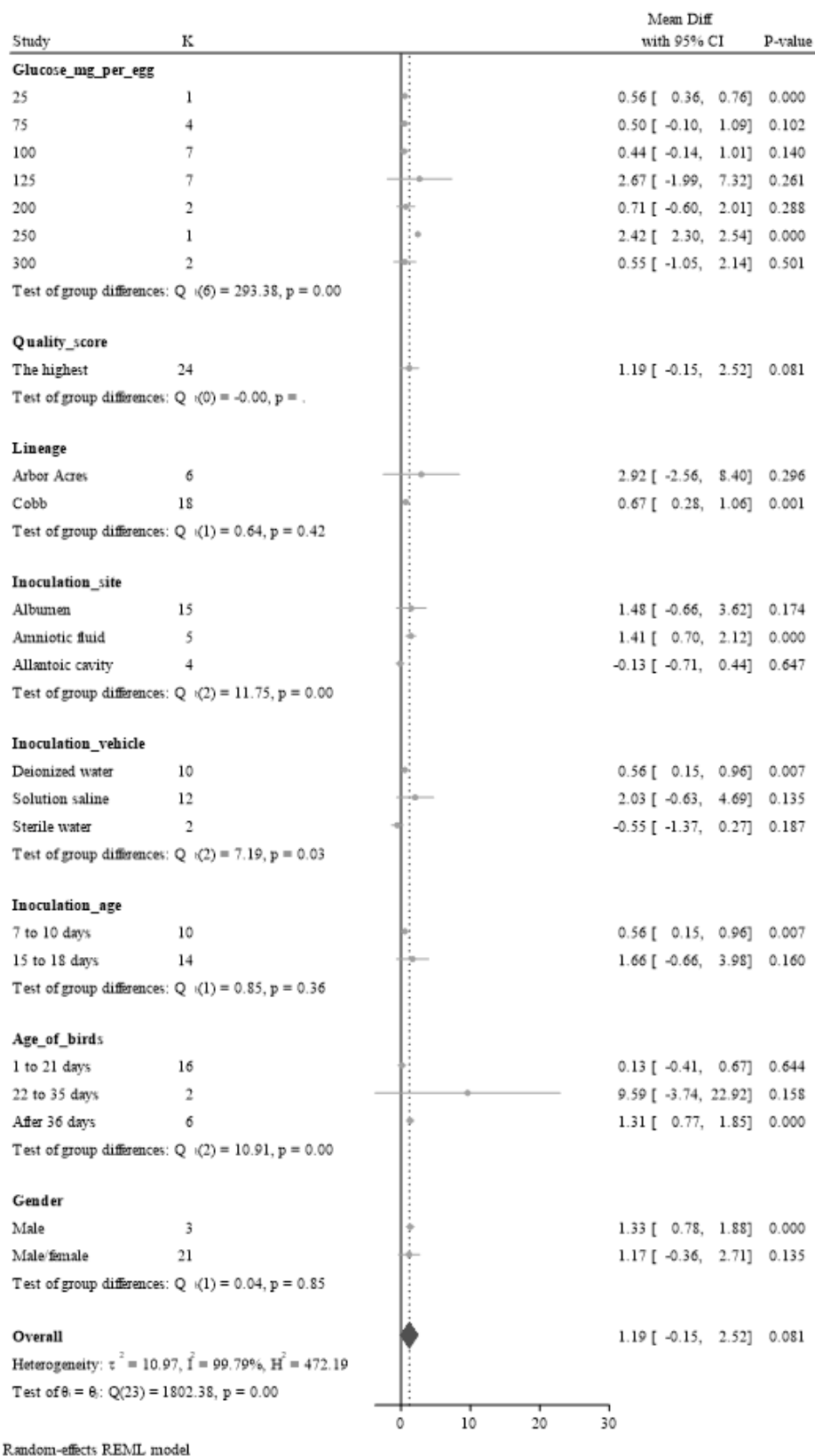


Figure 6 - Resumo da variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo), considerando as doses inoculadas, escore de qualidade dos estudos, linhagem, local e veículo de inoculação, idade embrionária de inoculação, idade de avaliação de desempenho da ave e gênero.

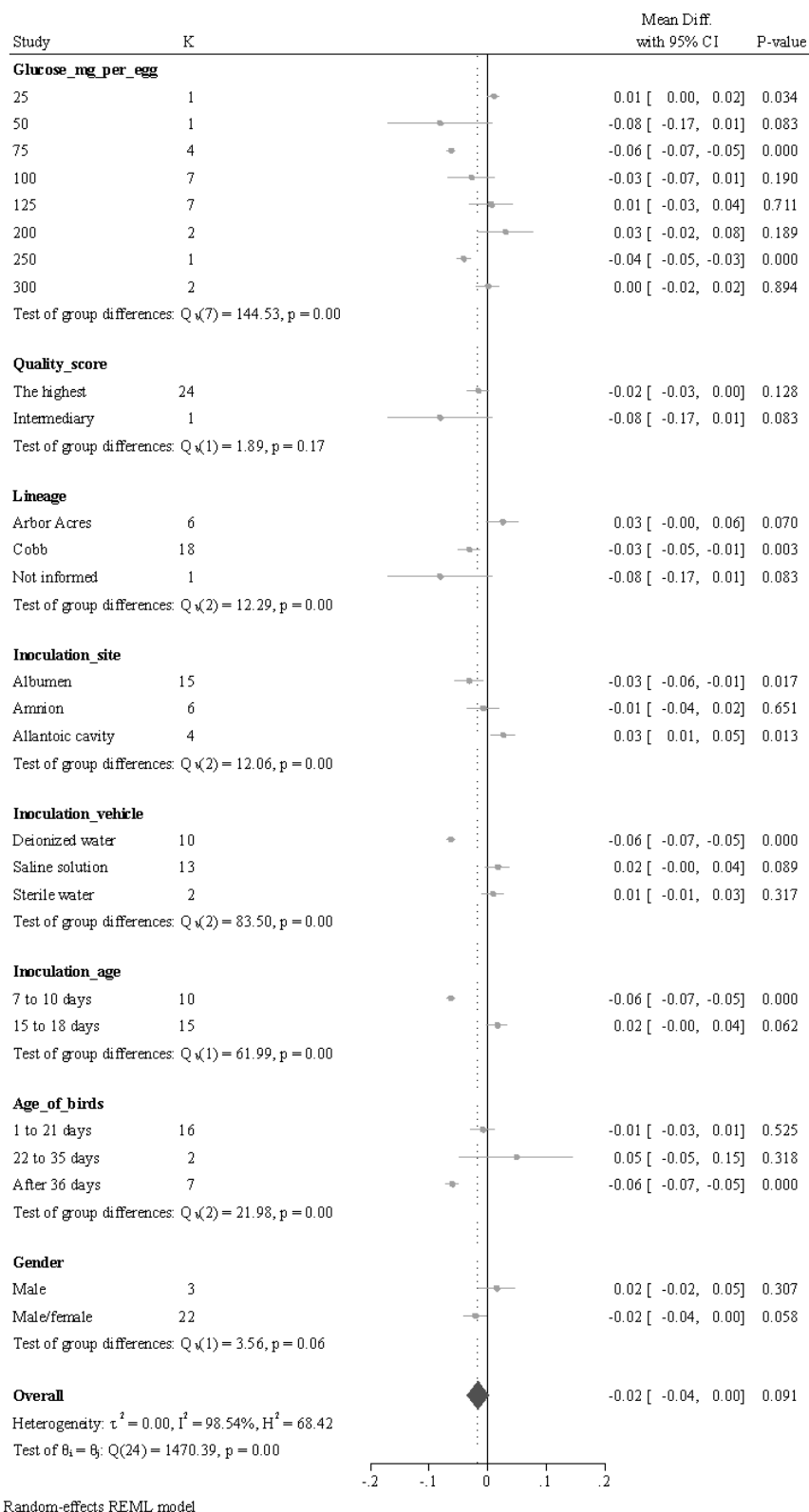


Figure 7 - Gráfico de *Funnel Plot* com intervalo de confiança de 95% obtidos com o modelo de efeito aleatório linear para eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso, consumo de ração e taxa de conversão alimentar como resultado.

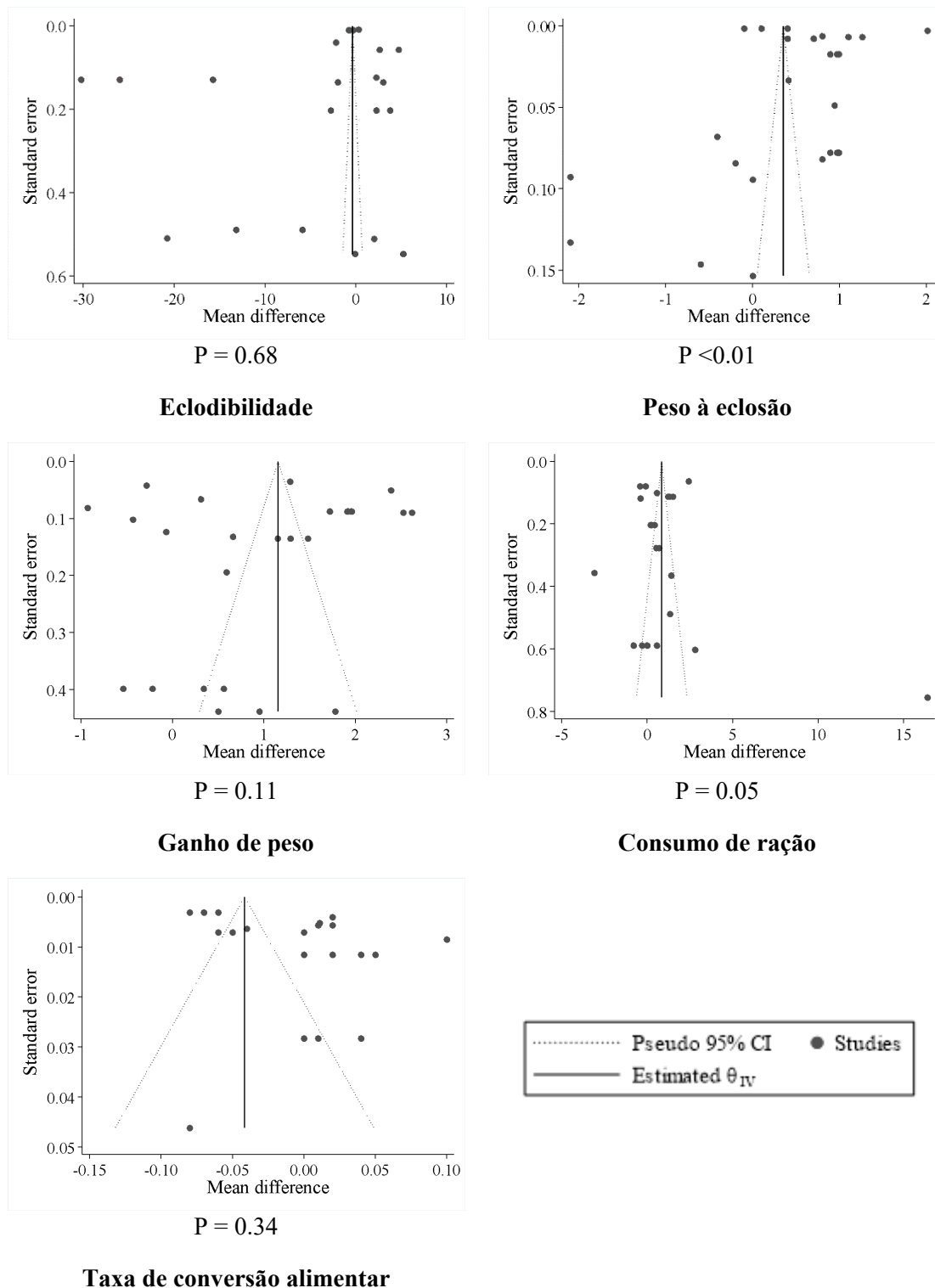
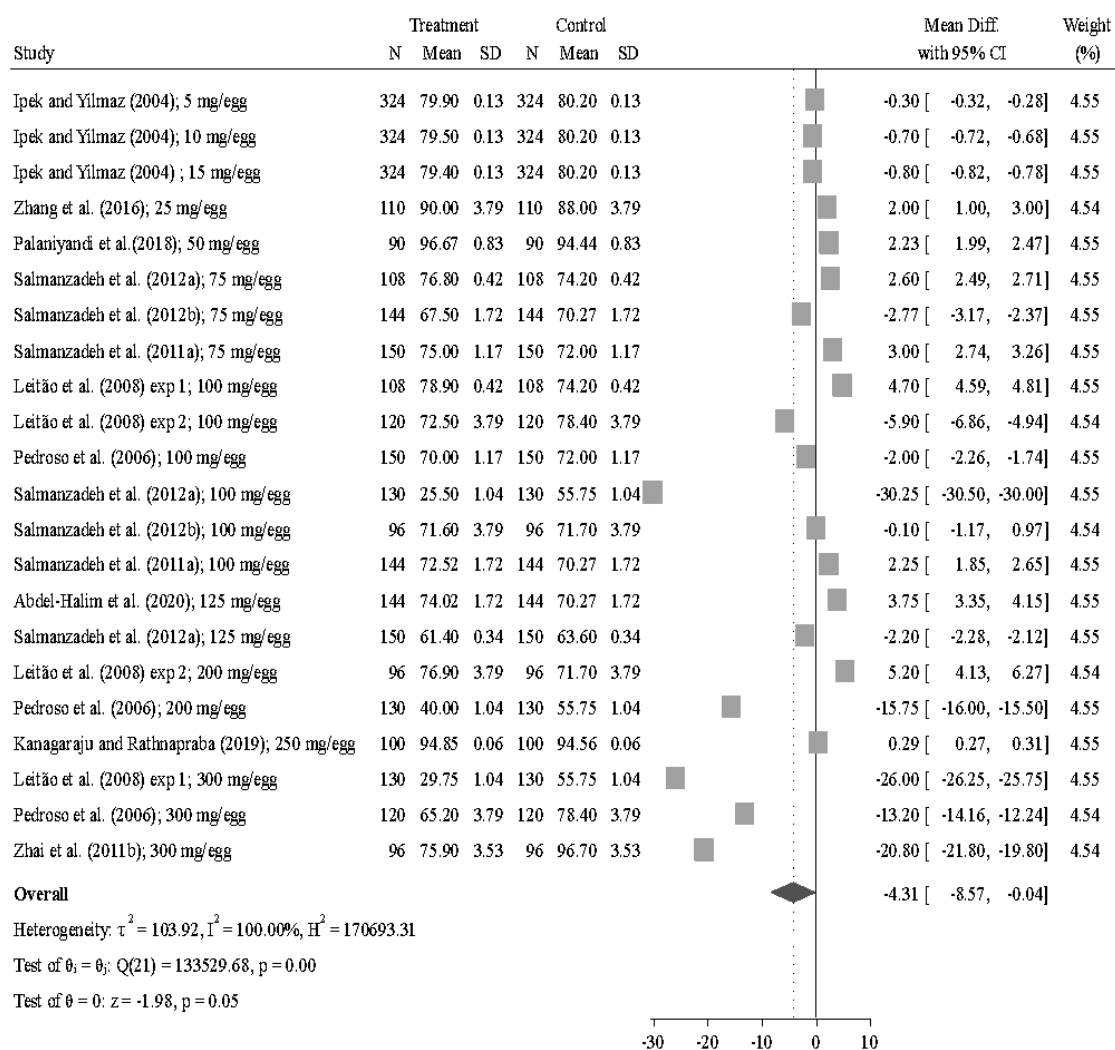
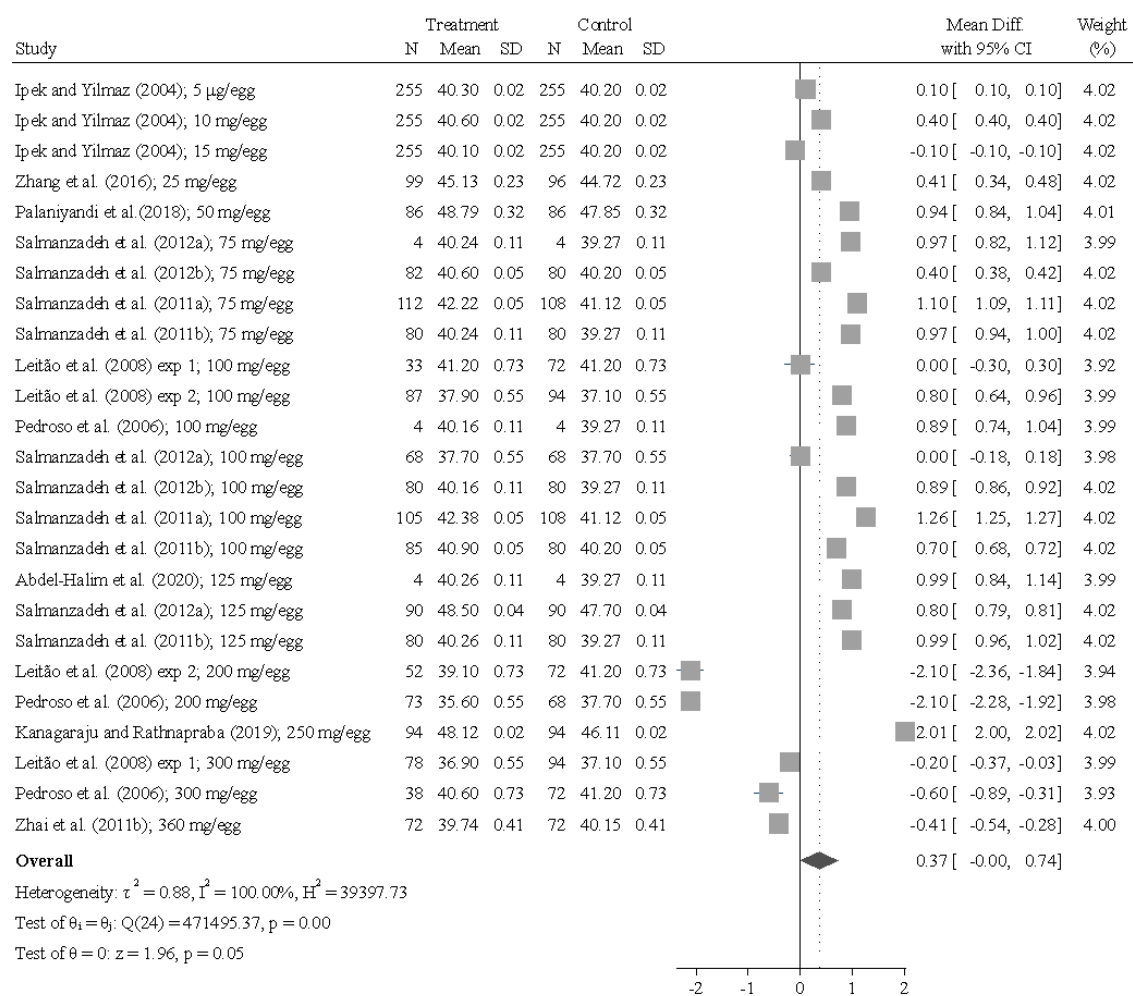


Figura 8 - Variação (Δ) na eclodibilidade de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com a sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.



Random-effects REML model

Figure 9 - Variação (Δ) do peso à eclosão (g) de frangos de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.



Random-effects REML model

Figure 10 - Variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.

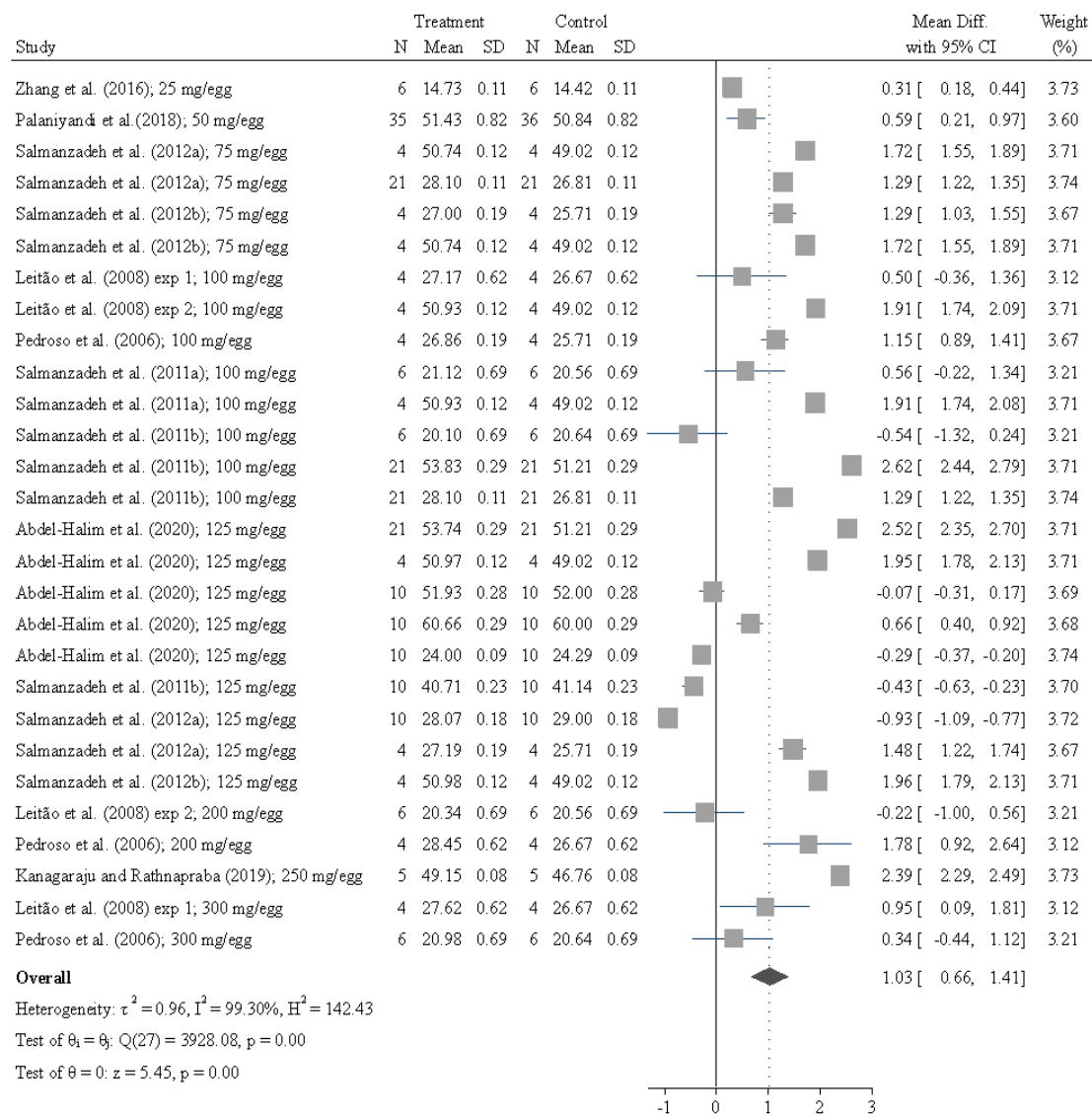
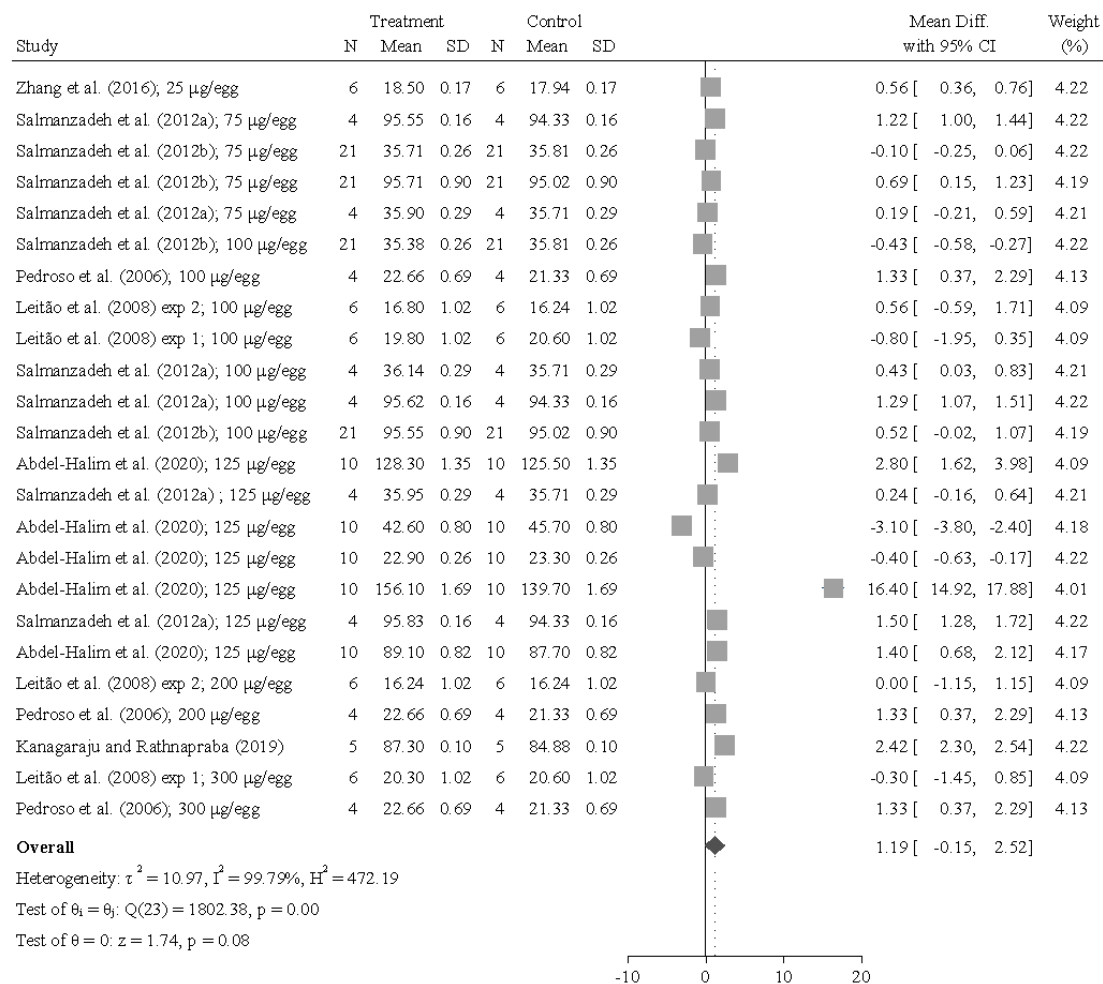
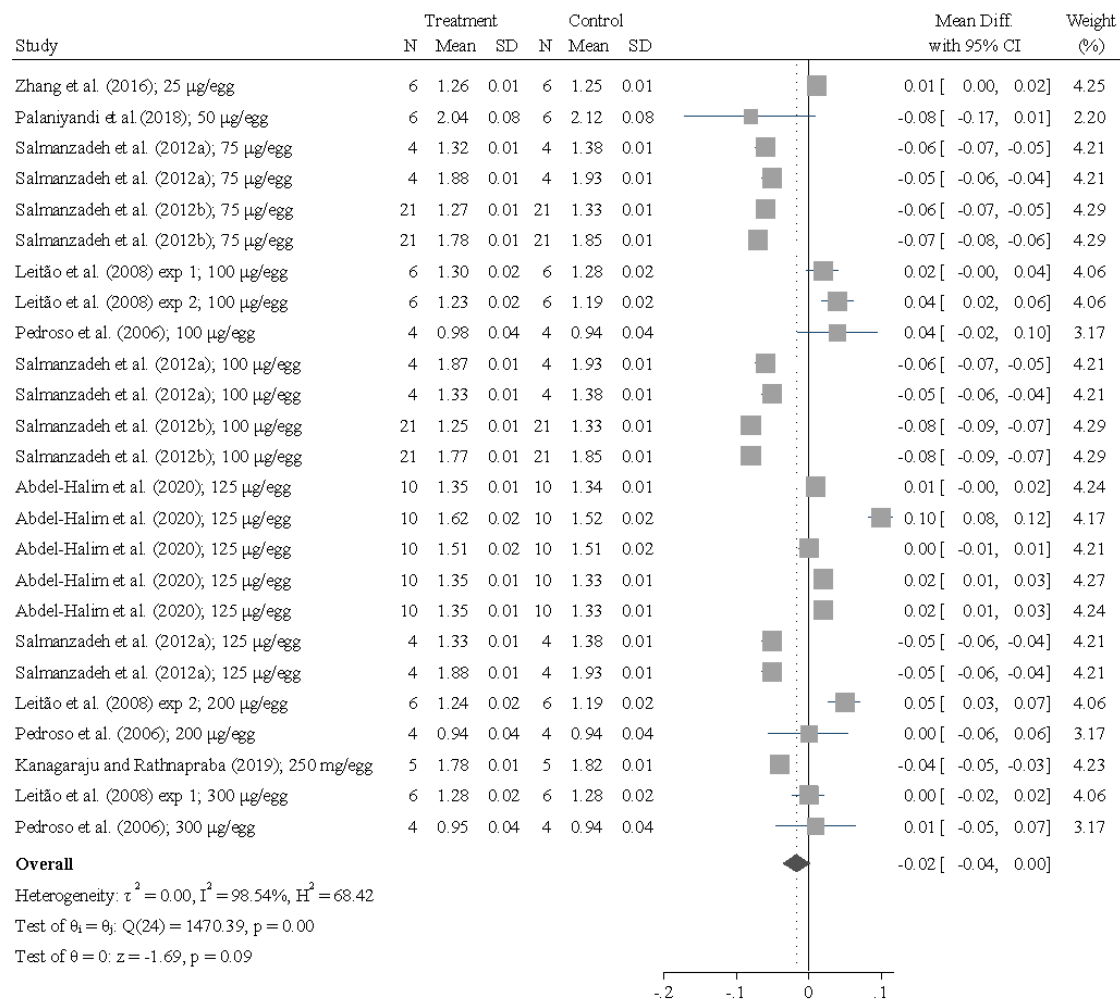


Figure 11 - Variação (Δ) no consumo de ração (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.



Random-effects REML model

Figure 12 - Variação (Δ) na taxa de conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com glicose em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação de veículo). Cada símbolo representa a comparação entre os grupos avaliados em cada estudo. Cada linha representa um estudo com sua respectiva quantidade de glicose (quantidade/ovo) inoculada.



Random-effects REML model