



GABRIELA PEREIRA SOUZA

**NUTRIÇÃO *IN OVO* COM AMINOÁCIDOS PARA FRANGOS
DE CORTE - UMA METANÁLISE**

Lavras – MG

2022

GABRIELA PEREIRA SOUZA

**NUTRIÇÃO *IN OVO* COM AMINOÁCIDOS PARA FRANGOS DE CORTE - UMA
METANÁLISE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para obtenção do título de Mestre.

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

**Lavras – MG
2022**

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

Souza, Gabriela Pereira.

Nutrição *in ovo* com aminoácidos para frango de corte - uma
metanálise / Gabriela Pereira Souza. - 2022.

71 p. : il.

Orientador(a): Márcio Gilberto Zangeronimo.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. embrião de galinha. 2. eclodibilidade 3. inoculação 4.
performance I. Zangeronimo, Márcio Gilberto. II. Título.

GABRIELA PEREIRA SOUZA

**NUTRIÇÃO *IN OVO* COM AMINOÁCIDOS PARA FRANGOS DE CORTE - UMA
METANÁLISE**

***IN OVO* NUTRITION WITH AMINO ACIDS FOR BROILER CHICKENS - A META-
ANALYSIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de julho de 2022

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo UFLA

Dr. Itallo Conrado Sousa de Araújo UFMG

Dr. Adriano Geraldo IFMG

Dr. Macos Ferrante UFLA


Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

**Lavras – MG
2022**

*À minha mãe Pérsia que, mesmo sem ter tido muitas oportunidades na vida, lutou para que eu tivesse todas e me ensinou que a educação é a única coisa que ninguém pode me tirar.
Cada conquista minha será também sua.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, único senhor e salvador da minha vida, que me permitiu caminhar por uma estrada cheia de oportunidades. Pelo sustento diário e por nunca faltar nada a mim e minha família. Consagro a Ele mais esta conquista.

Aos meus pais, Sidmarcos e Pérsia, pela criação amorosa e por me darem a oportunidade de estudar. Sei que vocês abdicaram dos seus sonhos para sonharem o meu e serei eternamente grata.

À minha irmã, Tábatta, pelo apoio e amizade, e por ter sido sempre um exemplo de esforço e dedicação para mim.

Ao meu companheiro Otávio, pelo amor, respeito e cuidado diário. Só você vivenciou comigo os dias mais difíceis e seu apoio é fundamental.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Medicina Veterinária, pela excelente estrutura, professores, técnicos e funcionários que fazem parte do nosso desenvolvimento. Sempre terei orgulho de ser UFLA!

Ao meu orientador, Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo, pelo apoio, paciência e impecável orientação. Por ser um exemplo de profissional e dedicar-se com tanto zelo a fazer bem o seu ofício.

Aos professores doutores Itallo Conrado Sousa de Araújo, Adriano Geraldo e Marcos Ferrante, por aceitarem gentilmente compor a banca deste trabalho e contribuírem com a minha formação. Um agradecimento especial ao professor Marcos, por ter sido um grande incentivador durante esta etapa, pelos conselhos e conversas que ensinam “aquilo que os livros não contam”.

Ao Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS) por me confiar a rica experiência da docência e, em especial, aos colegas e funcionários da medicina veterinária, pela amizade, companheirismo e apoio em todos os sentidos. Agradeço também aos meus alunos, que me ensinam mais do que eu a eles.

Aos amigos que fazem parte da minha vida, especialmente à Marina, Fábria, Laís e Érika, que me apoiaram tanto até aqui, se alegrando verdadeiramente por minhas conquistas, e pelos casos profissionais e vinhos compartilhados.

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

RESUMO

As linhagens modernas de frangos de corte foram selecionadas para o crescimento rápido e melhoria da conversão alimentar. Em consequência disso, as exigências nutricionais aumentaram desde a fase de desenvolvimento embrionário. Entretanto, a quantidade de nutrientes no ovo permanece estável, o que pode limitar a expressão do potencial genético de desempenho. Portanto, objetivou-se com esse estudo avaliar, por meio de metanálise, o efeito da inoculação com aminoácidos de ovos fertilizados nas características de eclosão e pós-eclosão de frango de corte. A busca de artigos científicos foi realizada em janeiro de 2022 em diferentes bases de dados utilizando as palavras-chave (*amino acid* OR *amino acids* AND “*in ovo*”). A metanálise foi realizada pelo modelo de efeitos aleatórios, considerando as diferenças entre o grupo inoculado com aminoácidos e o controle placebo. A análise global mostrou que a inoculação de aminoácidos não influenciou ($p > 0,05$) a eclodibilidade, porém aumentou ($p < 0,01$) o peso a eclosão e o ganho e peso e melhorou ($p < 0,01$) a conversão alimentar. Na análise de subgrupos, apenas a inoculação de alanina aumentou ($p < 0,01$) a eclodibilidade. Houve aumento ($p < 0,05$) do peso à eclosão com arginina, lisina, carnitina, creatina, alanina e metionina, enquanto glicina e isoleucina reduziram ($p < 0,05$) essa variável. O ganho de peso pós-eclosão foi aumentado com glutamina ($p < 0,01$), creatina ($p < 0,01$), metionina ($p < 0,01$) e lisina ($p = 0,05$) e a conversão alimentar foi melhorada ($p < 0,05$) com glutamina, arginina e treonina. Todas as variáveis foram influenciadas positivamente ($p < 0,05$) quando as soluções foram diluídas em água deionizada, inoculadas no albúmen, entre o 7º e 14º dias de incubação, utilizando ovos de galinhas de idade entre 41 e 60 semanas. A nutrição *in ovo* de aminoácidos pode melhorar parâmetros de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte. A alanina e a carnitina são mais adequados para melhorar características de eclosão; a glutamina para melhorar o desempenho pós-eclosão; e a arginina, creatina e lisina por favorecer ambos. A água deionizada deve ser utilizada como veículo de diluição e o albúmen o local de inoculação recomendado. As soluções devem ser inoculadas entre o 7º e 14º dias de incubação. Melhores resultados são obtidos em ovos de matrizes com idade superior a 40 semanas.

Palavras chave: Embrião de galinha. Eclodibilidade. Inoculação. Performance.

ABSTRACT

Modern broiler lineages have been selected for rapid growth and improved feed conversion. As a result, nutritional requirements have increased since the embryonic stage of development. However, the amount of nutrients in the egg remains stable, which can limit the expression of genetic performance potential. Therefore, the objective of this study was to evaluate, through meta-analysis, the effect of inoculation with amino acids of fertilized eggs on the hatching and post-hatching characteristics of broilers. The search for scientific articles was carried out in January 2022 in different databases using the keywords (amino acid OR amino acids AND “in ovo”). The meta-analysis was performed using the random effects model, considering the differences between the group inoculated with amino acids and the placebo control. The global analysis showed that the inoculation of amino acids did not influence ($p > 0.05$) the hatchability, however it increased ($p < 0.01$) the hatching weight and the weight gain and improved ($p < 0.01$) the conversion feed. In the subgroup analysis, only alanine inoculation increased ($p < 0.01$) hatchability. There was an increase ($p < 0.05$) in hatching weight with arginine, lysine, carnitine, creatine, alanine and methionine, while glycine and isoleucine reduced ($p < 0.05$) this variable. Post-hatch weight gain was increased with glutamine ($p < 0.01$), creatine ($p < 0.01$), methionine ($p < 0.01$) and lysine ($p = 0.05$) and feed conversion was improved ($p < 0.05$) with glutamine, arginine and threonine. All variables were positively influenced ($p < 0.05$) when the solutions were diluted in deionized water, inoculated into the albumen, between the 7th and 14th days of incubation, using eggs from hens aged between 41 and 60 weeks. In ovo nutrition of amino acids can improve hatch and post hatch parameters of broilers. Alanine and carnitine are best suited to improve hatching characteristics; glutamine to improve post-hatch performance; and arginine, creatine and lysine favoring both. Deionized water should be used as a dilution vehicle and albumen the recommended inoculation site. The solutions must be inoculated between the 7th and 14th days of incubation. Best results are obtained in eggs from hens aged over 40 weeks.

Keywords: Chicken embryo. Hatchability. Inoculation. Performance.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fluxograma da busca e seleção dos artigos a partir da seguinte combinação de palavras: (*aminoacid* OR *aminoacids*) AND (“*in ovo*”). Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação desta revisão.....66
- Figura 2** - Resumo da variação (Δ) na eclodibilidade (%) de ovos inoculados com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.....67
- Figura 3** - Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de ovos inoculados com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.....68
- Figura 4** - Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos inoculados com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.....69
- Figura 5** - Resumo da variação (Δ) na conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo, idade embrionária na inoculação.....70
- Figura 6** - Gráfico *Funnel Plot* com intervalo de confiança de 95% obtido com o modelo linear de efeito aleatório para eclodibilidade, peso ao nascimento, ganho de peso e conversão alimentar. Os valores de P foram obtidos pelo teste de Begg (eclodibilidade) ou teste de Egger.....71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos estudos selecionados.....	58
Tabela 2 - Escore de pontuação dos artigos com base nos critérios de avaliação da qualidade de evidência.....	60
Tabela 3 - Principais resultados dos estudos avaliados.....	61
Tabela 4 - Síntese dos principais resultados (e número de estudos) da metanálise, considerando o tipo de aminoácido e a metodologia utilizada.....	64

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Estrutura e composição do ovo	14
2.2 Desenvolvimento embrionário	15
2.3 Metabolismo embrionário	16
2.4 Inoculação <i>in ovo</i> de nutrientes.....	18
2.5 Inoculação <i>in ovo</i> de aminoácidos.	19
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
REFERÊNCIAS	23
SEGUNDA PARTE	28
De acordo com as normas da <i>Animal Feed Science and Technology</i>	28
ARTIGO : NUTRIÇÃO <i>IN OVO</i> COM AMINOÁCIDOS PARA FRANGOS DE CORTE: UMA METANÁLISE	28

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A carne de frango tornou-se a carne mais consumida do mundo nos últimos anos devido ao seu alto valor nutricional, preço reduzido de mercado e maior quantidade de proteína produzida em curto espaço de tempo quando comparado à outras espécies. O Brasil está entre os três maiores produtores mundiais e lidera como maior exportador deste produto, que representa grande importância para a atividade econômica do país. No entanto, para suportar o aumento exponencial da escala de produção é imprescindível fornecer condições adequadas para que as aves possam produzir com máxima eficiência. Para que isso seja possível, deve-se considerar avanços tecnológicos, melhoramento genético, otimização de programas nutricionais e de bem-estar, visto que estas estratégias contribuem para alavancar a cadeia produtiva do frango de corte.

Com o avanço das tecnologias de produção, a idade de abate do frango foi reduzida em aproximadamente 40% e o peso de abate mais que dobrou. As linhagens modernas foram melhoradas geneticamente para obterem rápido crescimento e desempenho máximo, baseados na melhoria contínua da conversão alimentar. Considerando o curto espaço de tempo da cadeia produtiva, o desenvolvimento embrionário passou a representar mais de 33% de todo o período de vida do frango. Sendo assim, distúrbios fisiológicos e metabólicos nesta fase podem influenciar negativamente no desenvolvimento pós-eclosão da ave. Ao contrário dos mamíferos, as aves não possuem um suprimento materno contínuo de energia e os depósitos de nutrientes são limitados ao conteúdo do ovo que, apesar de ser considerado completo nutricionalmente, pode ser insuficiente para sustentar o desenvolvimento embrionário das linhagens modernas de frango de corte. Dentre as estratégias nutricionais atuais, a técnica de inoculação *in ovo* de nutrientes vem se destacando por permitir a administração de diferentes compostos a fim de aumentar a energia e qualidade nutricional ainda na fase embrionária, promovendo melhora nos parâmetros de eclosão e performance dos frangos.

No terço final da incubação há um aumento expressivo da demanda de energia pelo embrião. Neste momento, o conteúdo de oxigênio no ovo é limitado e a produção de energia ocorre pelo metabolismo anaeróbico através da via da glicólise, utilizando aminoácidos como principal substrato para gliconeogênese hepática. Além disso, após a eclosão, o pinto permanece em jejum por muitas horas até ter acesso à alimentação exógena. Durante esse tempo, e a glicemia continua sendo mantida pela gliconeogênese. Dessa forma, a utilização de aminoácidos para atividade de manutenção reduz a disponibilidade desses nutrientes para a síntese

proteica e, conseqüentemente, para o crescimento muscular e desenvolvimento nos primeiros dias pós-eclosão. Esse entrave nutricional limita a expressão do potencial genético de crescimento das linhagens selecionadas.

Visto o papel importante dos aminoácidos para o desenvolvimento do embrião e para o pinto recém-eclodido, o fornecimento *in ovo* destes nutrientes pode aumentar a quantidade de substrato proteico, resultando em otimização do crescimento muscular e, conseqüentemente, maior ganho de peso e melhor conversão alimentar. Essa técnica tem sido estudada nos últimos anos, entretanto os resultados apresentados são inconsistentes devido a variações na metodologia, como o tipo de aminoácido utilizado, veículo de diluição, local e idade embrionária de inoculação. Assim, a definição de qual aminoácido e qual metodologia proporcionam melhores resultados são importantes para consolidar a nutrição *in ovo* como uma técnica capaz de otimizar a produção do frango de corte. Portanto, objetivou-se com esse estudo verificar, por meio de metanálise, se a inoculação *in ovo* de aminoácidos pode influenciar as características de eclosão e pós-eclosão de frangos de corte.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Estrutura e composição do ovo

O ovo é formado pela casca, albúmen e gema, que representam em média uma proporção de 10,5%, 58,5 % e 31% respectivamente (VIEIRA e MORAN JÚNIOR, 1999). Cada estrutura tem uma composição particular, que pode ser afetada pela nutrição da matriz, e é responsável pela mobilização de nutrientes específicos para o embrião (VIEIRA, 2007).

A casca é majoritariamente constituída por carbonato de cálcio e possui poros que permitem trocas gasosas constantes com o ambiente externo (SCOTTÁ et al., 2014). Essa estrutura é recoberta pela cutícula, uma camada de glicoproteínas que auxilia na prevenção da perda excessiva de água e protege contra infecções (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949; PEEBLES e BRAKE, 1986). Além disso, há uma membrana externa necessária para a mineralização, e uma membrana interna, que se altera logo após a oviposição dando origem à câmara de ar, um importante reservatório de oxigênio utilizado pelo embrião durante o processo de bicagem (VIEIRA, 2007). O cálcio é o principal componente da casca do ovo (98,2%), mas outros minerais também estão presentes e podem ser fornecidos para o embrião em desenvolvimento, como o magnésio (0,9%) e o fósforo (0,9%) (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949).

A gema é a estrutura central do ovo, sustentada em sua posição pela chalaza, e em sua porção superior está localizado o blastodisco, local onde o embrião se fixa após a fertilização (SCOTTÁ et al., 2014). Os principais componentes são água, lipídeos e, em menor proporção, proteínas (FAO, 2010). Os lipídeos compreendem cerca de 72,5% de triglicerídeos, 24,4% de fosfolípidos e 3,9% de colesterol (SCHNEIDER e TATRIE, 1968).

O albúmen é constituído principalmente por água (88%) e proteínas (10,5%), e possui frações mínimas de lipídeos, minerais e vitaminas (FAO, 2010), sendo o principal sítio de fornecimento de água e proteínas para o embrião e a redução do seu conteúdo pode afetar o desenvolvimento embrionário (VIEIRA e MORAN JÚNIOR, 1999). O ovo contém quantidades muito baixas de carboidrato livre, sendo que a gema e o albúmen juntos possuem cerca de 1% de carboidratos, principalmente glicose (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949).

Segundo Vieira e Moran Jr. (1999), a composição química e a proporção dos componentes do ovo variam de acordo com a idade da galinha, sendo que matrizes mais velhas produzem ovos com maior teor de gordura na gema, assim como teores de umidade e proteínas, refletindo em aumento do peso do ovo. Esses autores também explicam que linhagens diferentes também apresentam variações resultantes da seleção genética.

2.2 Desenvolvimento embrionário

O desenvolvimento do embrião tem início no momento da fecundação do óvulo no infundíbulo da galinha, dando origem ao zigoto que evolui junto com o desenvolvimento do ovo, processo que dura aproximadamente 26 horas (FIUZA et al., 2006). Após a postura, o embrião segue se desenvolvendo durante a incubação do ovo (MORAN JÚNIOR, 2007) que, em condições ideais de temperatura, umidade, oxigenação e viragem, se completa em aproximadamente 21 dias (504 horas) (GONZALES, 2005). Este período pode ser dividido em três fases: diferenciação celular, onde as células tornam-se especializadas e tem início a formação de órgãos vitais; crescimento, onde há sucessivas mitoses e hipertrofia para o desenvolvimento de tecidos e órgãos e, por último, a maturação dos tecidos e órgãos formados para que passem a ser funcionais (DECUYPERE e MICHELS, 1992).

A partir dos anexos geminativos do embrião ocorre a formação dos anexos embrionários: âmnion, saco vitelínico, córion e alantoide (BARBOSA, 2011). O âmnion começa a ser formado com 30 horas de incubação e se completa em aproximadamente 72 horas (FREEMAN e VINCE, 1974). Ele envolve o embrião e é responsável pela sua proteção (GIVISIEZ et al., 2020), além de possui uma camada interna que secreta o líquido amniótico com a função de impedir a ocorrência de choques mecânicos e mantê-lo hidratado (OLIVEIRA, 2007). Entre o 10º e 13º dias de incubação o embrião começa a absorver o líquido amniótico, completando a absorção até o 18º dia (BOHORQUEZ, 2010). Essa ingestão é uma importante fonte de água e nutrientes, sendo crucial no preparo para a eclosão, uma vez que auxilia no desenvolvimento da mucosa do intestino, que, nesta fase, ainda é imaturo e tem baixa capacidade de absorção de nutrientes (OLIVEIRA, 2007).

O saco vitelínico é formado com 48 horas de incubação como uma extensão do trato digestório, delimitando a gema (DEEMING, 2002), sendo o principal responsável pela nutrição do embrião (GIVISIEZ et al., 2020), uma vez que possui nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento como lipídeos, pequenas quantidades de proteínas e carboidratos, além de mineirais (UNI et al., 2012). As células da membrana do saco vitelínico são capazes de digerir e transportar nutrientes, como proteínas e glicose, assemelhando-se aos enterócitos, enquanto o transporte de lipídeos ocorre por endocitose (DEEMING, 2002). Segundo esse autor, por volta do 12º dia de incubação o saco vitelínico se une ao intestino delgado. Próximo ao 19º dia esse anexo é internalizado na cavidade abdominal, tornando-se a única fonte de nutrientes para o pintinho recém eclodido até que a alimentação exógena seja fornecida (YADGARY et al., 2014). Além disso, o saco vitelínico é um importante local de síntese de células sanguíneas e tem um papel na defesa contra patógenos, uma vez que é o sítio de transferência de anticorpos

maternos para o embrião (YADGARY et al., 2014; GIVISIEZ et al., 2020). O saco vitelínico ainda possui uma extensa região vascularizada que cresce de maneira acentuada entre o 3º e 5º dias de incubação, onde os vasos que partem do embrião espalham-se em forma de “leque” e envolvem a gema, responsáveis pela troca gasosa até que a membrana corioalantóide assuma este papel (BARBOSA, 2011).

O córion é responsável pela respiração e envolve todas as estruturas embrionárias, protegendo o embrião e as demais membranas (GIVISIEZ et al., 2020). O alantóide se forma por volta de 65 a 69 horas de incubação como uma projeção do intestino grosso (DEEMING, 2002) e atua como um estoque de metabólitos derivados do metabolismo embrionário, circundando o saco amniótico, o saco vitelínico e o albúmen (GIVISIEZ et al., 2020). Segundo esses autores, aos 13 dias de incubação seu volume máximo é atingido e posteriormente diminui à medida que as células reabsorvem água, sódio e cloreto. O alantóide e o córion se fundem por volta do 5º ao 6º dia de incubação para formar a membrana corioalantóica. Essa membrana atua como órgão respiratório e faz a reabsorção de água e eletrólitos do líquido alantóico, mantendo o equilíbrio ácido-base (GABRIELLI e ACCILI, 2010). Por volta do 12º dia de incubação a corioalantóide já envolve todo o conteúdo do ovo, reveste a superfície da membrana interna da casca e infiltra-se completamente nos poros (BARBOSA, 2011), permitindo a remoção e o transporte do cálcio da casca para o embrião, processo que enfraquece a casca, importante para a fase de eclosão (CESARIO, 2013).

Entre o 5º e 18º dias de incubação o embrião passa por uma fase de intenso crescimento, onde o requerimento nutricional é crítico (WILSON, 1997). Entre o 19º e 21º dias de incubação, fase perinatal, ocorrem eventos importantes que condicionam a eclosão do pinto, como o posicionamento da cabeça próximo à câmara de ar, a bicagem e início da respiração pulmonar (BARBOSA, 2011). Segundo essa autora, a bicagem interna perfura a membrana corioalantóide e membrana interna da casca, fazendo com que o pinto comece a inalar os gases da câmara de ar e tenha início a respiração pulmonar, enquanto a membrana corioalantóide reduz progressivamente sua funcionalidade. A bicagem externa promove a ruptura total da casca do ovo e o contato com o ambiente externo, onde os pulmões assumem totalmente a função respiratória (BARBOSA, 2011).

2.3 Metabolismo embrionário

O metabolismo embrionário varia de acordo com três fases: implantação do embrião, conclusão do embrião e preparo para a eclosão (MORAN JÚNIOR, 2007).

A primeira fase, onde há o crescimento inicial, ocorre sob baixas condições de oxigenação (CIROTTO e ARANGI, 1989). Esses autores explicam que o acesso ao oxigênio é limitado à difusão simples e a energia gasta nesta fase provém da via da glicólise, resultando em um aumento temporário de lactato que ocorre até a membrana corioalantóide tornar-se funcional. À medida que os níveis de oxigênio aumentam, o lactato é transportado para o fígado e reciclado para glicose pela via da gliconeogênese (CHRISTENSEN et al., 2003).

A segunda fase é caracterizada por uma membrana corioalantóica totalmente funcional, garantindo maior oxigenação para a fase de intenso crescimento e demanda energética (MORAN JÚNIOR, 2007). A fonte energética primária neste momento provém da oxidação de ácidos graxos da gema, sendo os triglicerídeos o principal componente utilizado (BARBOSA, 2011). Além dos ácidos graxos, outros substratos podem ser utilizados para manutenção da glicemia através da gliconeogênese, principalmente o lactato acumulado durante a primeira semana de desenvolvimento, o glicerol, gerado pela hidrólise dos triglicerídeos, e as proteínas da gema (FOYE, 2005). A glicose é armazenada como glicogênio no fígado, rim e músculos, e essa reserva será utilizada na última semana de incubação (UNI e FERKET, 2004).

Segundo Moran Junior (2007), na última fase a expansão do embrião no interior do saco amniótico e seus movimentos físicos dão início aos eventos do preparo para a eclosão entre o 10º e 12º dias de incubação. Esse autor explica que o albúmen é rompido e se mistura ao âmion, conteúdo que passa a ser ingerido oralmente pelo embrião entre o 10º e 13º dias e absorvido pelo trato gastrointestinal de forma contínua até que acabe o fluido albúmen-amniótico e seja iniciada a bicagem interna. Nesse momento há principalmente absorção de proteínas, como a ovomucóide, que contém carboidratos úteis para produção de energia (MORAN JÚNIOR, 2007). No momento da bicagem, a atividade muscular demanda a utilização dos estoques de glicogênio (BARBOSA, 2011) e a glicemia é mantida pela gliconeogênese hepática, que utiliza principalmente aminoácidos como substrato (UNI e FERKET, 2004). O catabolismo proteico significativo ao final da incubação afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento do embrião, podendo refletir em menor peso do pinto a eclosão (UNI e FERKET, 2004; UNI et al., 2005).

A partir do 19º dia de incubação ocorre a incorporação do saco vitelínico na cavidade abdominal (BARBOSA, 2011). O saco vitelínico residual representa cerca de 10% do peso corporal total do pintinho recém eclodido e seu conteúdo composto por lipídeos e proteínas supre a demanda energética durante a adaptação nutricional à dieta exógena, porém a quantidade de nutrientes diminui rapidamente e no terceiro dia pós eclosão estão quase esgotados (VIEIRA e MORAN JÚNIOR, 1999).

2.4 Inoculação *in ovo* de nutrientes

O embrião de ave depende de um reservatório finito de energia e nutrientes para sustentar seu desenvolvimento (EBRAHIMI et al, 2017). Nas últimas décadas houve intensa seleção genética para promover o crescimento rápido de frangos de corte, fazendo com que as exigências nutricionais aumentassem nos períodos pré e pós-eclosão. No entanto, o teor de nutrientes do ovo permanece estável e isso pode culminar com deficiências nutricionais para embriões modernos de alta produtividade (SÖZCÜ e AK, 2020). Além disso, nas práticas da indústria comercial, há um intervalo que pode variar de 24 a 48 horas até o fornecimento de ração e água para os pintinhos recém eclodidos devido à variação no tempo de nascimento, manuseio e tempo de transporte até a granja de produção (ZHAO et al., 2017). Este tempo em jejum gera consequências negativas para o pinto, incluindo aumento da mortalidade pós eclosão (GIVISIEZ et al., 2020) e déficit no desenvolvimento do trato gastrointestinal, o que influencia negativamente no seu crescimento (TAHMASEBI e TOGHYANI, 2015).

A administração *in ovo* de nutrientes tem como objetivo fornecer uma fonte nutricional adicional durante o desenvolvimento embrionário, suplementando nutrientes que tenham efeito positivo sobre o desempenho do embrião e do pinto (GUERREIRO et al., 2016). O objetivo da técnica é melhorar o estado energético e o desenvolvimento intestinal na fase de pré-eclosão (NAYAK et al., 2017), minimizando os efeitos negativos do jejum pós-eclosão e da fase de transição (UNI e FERKET, 2003). Essa ferramenta é uma boa alternativa para maximizar a produtividade nas fases iniciais do ciclo, e, conseqüentemente, aumentar a lucratividade na indústria de frangos de corte (GIVISIEZ et al., 2020).

Embora a técnica tenha sido estudada desde o início dos anos de 1980, a inoculação *in ovo* de nutrientes ganhou maior destaque entre os estudos científicos partir do ano de 2000 (ALVES et al., 2020). Foram avaliados diferentes nutrientes como vitaminas, aminoácidos, carboidratos, entre outros aditivos, fornecidos em distintas fases do desenvolvimento embrionário (GONÇALVES et al., 2013). Entretanto, sabe-se que os resultados dependem de vários fatores como o local de inoculação, idade embrionária, volume administrado, osmolaridade e composição da solução (FERKET et al., 2005).

O local de inoculação pode afetar a capacidade de eclosão do pinto (OHTA e KIDD, 2001) e os estudos trazem resultados contraditórios associados à diferentes locais (SÖZCÜ e AK, 2020). Ohta e Kidd (2001) sugeriram que o melhor local para inoculação é o saco vitelínico. Segundo Uni e Ferket (2003), a inoculação pode ser feita na câmara de ar ou na região amniótica, incluindo o líquido amniótico e o saco vitelínico. Muitos autores defendem a administração no âmnion, uma vez que o embrião ingere oralmente o líquido amniótico até o

18º dia e assim o nutriente passará diretamente pelo trato gastrointestinal (UNI e FERKET, 2003; TAHMASEBI e TOGHYANI, 2015; PALANIYANDI et al., 2018).

Outro fator que apresenta grande variação é a idade embrionária no momento da inoculação. Uni e Ferket (2003) recomendam que o ovo seja inoculado entre o 15º e 19º dias de incubação, dando preferência para o 17º e 18º dias. Alguns autores fizeram a inoculação na segunda semana de incubação (VIEIRA et al., 2006; HAN et al., 2016; SALMANZADEH et al., 2016) enquanto outros seguiram a idade de 17 a 18 dias (AL-ASADI, 2013; ATAN e KOP-BOZBAY, 2021; MIRI et al., 2022). Ohta e Kidd (2001) explicam que a inoculação em idade embrionária precoce pode interferir no equilíbrio do embrião, reduzindo a eclodibilidade. Segundo Guerreiro et al. (2016), a inoculação em idade tardia (a partir do 19º dia) pode atingir o embrião e causar sua morte. Além disso, Uni e Ferket (2003) apontam que o método de administração não deve danificar os tecidos e órgãos do embrião para que o tratamento não diminua significativamente a taxa de eclosão.

Segundo Uni e Ferket (2003), a osmolaridade da solução é um fator limitante para a eclodibilidade. Esses autores observaram que soluções com osmolaridade abaixo de 800 miliosmóis (mOsm) inoculadas *in ovo* resultaram em eclodibilidade aceitável, sendo que o intervalo de osmolaridade entre 400 a 600 mOsm foi considerado ideal por resultar em eclodibilidade ótima. O volume ideal de inoculação pode variar de 0,5 a 1,0 mL, dependendo dos nutrientes que compõe a solução (UNI e FERKET, 2004). É provável que haja uma relação entre o tamanho do ovo e volume inoculado (PEDROSO et al., 2006).

Miranda et al. (2021) chamam atenção para as divergências entre os resultados, e afirmam que novos estudos devem ser direcionados a avaliar a diversidade de opções que existem na execução da técnica de inoculação de nutrientes *in ovo*.

2.5 Inoculação de aminoácidos *in ovo*

A maior fonte de energia para o embrião é a glicose armazenada como glicogênio no fígado e nos músculos glicolíticos, principalmente no terço final da incubação devido à disponibilidade limitada de oxigênio (MORAN JÚNIOR, 2007). Entretanto, quanto mais próximo da eclosão maior a demanda energética, e a manutenção da glicemia depende da gliconeogênese hepática que utiliza os aminoácidos como principal substrato (ZHAO et al., 2017), uma vez que o conteúdo de carboidrato no ovo é muito baixo (SÖZCÜ e AK, 2020). O uso dos aminoácidos para atender a demanda energética limita o conteúdo disponível para a síntese de proteína direcionada ao crescimento muscular do embrião, afetando negativamente o seu desenvolvimento (UNI e FERKET, 2004; UNI et al., 2005). A inoculação *in ovo* de

aminoácidos é uma estratégia para aumentar a quantidade de substrato energético e reduzir o catabolismo proteico, além de otimizar o desenvolvimento da mucosa intestinal (SUBRAMANIYAN et al., 2019).

Um dos primeiros estudos feitos com a inoculação de aminoácidos *in ovo* utilizou uma mistura de aminoácidos semelhante à composição encontrada no ovo, e descobriram que o grupo inoculado apresentou maior peso corporal à eclosão, que continuou aumentando em relação ao controle até os 56 dias de vida em frangos de corte (AL-MURRANI, 1982). Posteriormente, Ohta et al. (1999) também inocularam uma solução de aminoácidos calculados a partir do padrão encontrado no ovo, porém não houve ganho de peso significativo nos pintos recém-eclodidos, e a eclodibilidade diminuiu no grupo inoculado em relação ao controle.

Diferentes estudos foram feitos para avaliar a inoculação *in ovo* de arginina em frangos de corte, demonstrando ampla variação de resultados. Al-Asadi (2013) obteve resultados positivos ao injetar 20 mg de arginina no saco vitelínico aos 18 dias de incubação, com aumento de eclodibilidade, peso à eclosão e ganho de peso até os 42 dias. Gao et al. (2017) não encontraram diferenças na eclodibilidade e peso à eclosão quando injetaram doses de 3 e 6 mg de arginina no líquido amniótico no 18º dia de incubação. Porém, ao injetarem 12 mg houve uma redução na eclodibilidade. Subramaniyan et al. (2019) avaliaram a inoculação de diferentes doses de arginina em diferentes idades de incubação, e descobriram aumento de eclodibilidade e peso à eclosão injetando 0,1 mg aos 14 dias de incubação e aumento de eclodibilidade injetando 2,5 mg aos 18 dias. Além disso, nesse estudo a injeção de 1 mg de arginina aos 8 dias de incubação demonstrou reduzir a eclodibilidade, porém aumentou o peso à eclosão, e houve redução do peso à eclosão sem diferença sobre a eclodibilidade com a injeção de 0,1 mg de arginina aos 18 dias, 1 mg aos 14 dias e 2,5 mg aos 14 dias de incubação. Mohammed e Al-Hassani (2020) também demonstraram aumento de eclodibilidade e peso à eclosão injetando 3,5 mg de arginina em ovos de mesma idade de incubação, porém no saco alantóico. Outros estudos não mostraram diferenças significativas com a inoculação *in ovo* de arginina (BHANJA et al., 2012; OMIDI et al., 2019; MIRI et al., 2022).

A inoculação *in ovo* de glutamina também foi avaliada. Salmanzadeh et al. (2016) injetaram doses de 10, 20, 30, 40 e 50 mg de glutamina no albúmen aos 7 dias de incubação e encontraram aumento do peso à eclosão e redução da conversão alimentar avaliada em frangos com 42 dias. Neste trabalho somente a dose de 40 mg apresentou melhora da eclodibilidade. Os mesmos autores publicaram outro estudo posteriormente, utilizando as mesmas doses inoculadas no mesmo local, porém aos 14 dias de incubação, e demonstraram novamente aumento do peso à eclosão (exceto com a dose de 20 mg) e redução da conversão alimentar

(SALMANZADEH et al., 2020). Ao injetarem doses menores que variaram de 2,5 a 12,5 mg de glutamina no líquido amniótico, Rufino et al. (2019) encontraram redução da eclodibilidade. Sözcü and Ak (2020) injetaram diferentes doses de glutamina na câmara de ar aos 17 dias de incubação e obtiveram aumento de eclodibilidade e peso à eclosão com doses de 20 e 40 mg, aumento do peso à eclosão com dose de 60 mg, porém com a dose de 80 mg o peso à eclosão reduziu significativamente. Outros estudos não mostraram diferenças significativas nos parâmetros de eclodibilidade e performance com a inoculação *in ovo* de glutamina (PEDROSO et al., 2006; SHAFEY et al., 2013; DOS SANTOS et al., 2010; KARAMIK e KOP-BOZBAY, 2020).

Resultados variados também foram demonstrados em estudos que fizeram a inoculação de lisina *in ovo*. Al-Asadi (2013) inoculou 20 mg de lisina no saco vitelínico aos 18 dias de incubação e obteve resultados positivos, com aumento da eclodibilidade, peso à eclosão e ganho de peso até os 42 dias. Ebrahimi et al. (2017) inocularam doses variadas de lisina no âmnion aos 14 dias de incubação, e demonstraram aumento da eclodibilidade com 20 mg, porém redução da eclosão com doses de 10, 30 e 50 mg. Palaniyandi et al. (2018) demonstraram aumento da eclodibilidade ao inocularem 2,5 mg de lisina no âmnion aos 18 dias de incubação. Outros estudos não demonstraram diferenças significativas com a inoculação *in ovo* de lisina (VIEIRA et al., 2006; BHANJA et al., 2012; COSKUN et al., 2018).

A variabilidade nos resultados está associada às variações da execução da técnica, como o tipo de aminoácido utilizado, idade e local de inoculação. Alguns estudos demonstram que a inoculação de aminoácidos *in ovo* pode ser positiva para parâmetros de eclosão e pós eclosão, porém é necessário identificar qual metodologia gera melhores resultados.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o desenvolvimento da produção avícola as linhagens de frango de corte foram melhoradas geneticamente para o crescimento rápido e, em consequência disso, as demandas metabólicas das aves aumentaram desde a fase embrionária. A inoculação *in ovo* de nutrientes é uma tecnologia que visa atender essa necessidade nutricional precoce, fornecendo substratos que consigam atender a demanda energética e otimizar o desenvolvimento embrionário, refletindo em melhor desempenho pós-eclosão.

Como o embrião mobiliza aminoácidos para produção de glicose, a síntese protéica fica limitada e a ave pode deixar de expressar seu potencial genético de crescimento. Sendo assim, a administração de aminoácidos *in ovo* irá aumentar o conteúdo de substrato gliconeogênico no ovo, suportando a atividade vital de manutenção e a síntese protéica ótima. Apesar de ser uma técnica promissora, a variabilidade da metodologia ainda gera resultados contraditórios, inviabilizando sua aplicação em escala industrial. Sendo assim, é necessário o esclarecimento sobre qual aminoácido e metodologia geram melhores resultados para que a inoculação *in ovo* destes nutrientes seja considerada satisfatória para beneficiar a cadeia produtiva de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- AL-ASADI, A.N.O. **Effect of early feeding (in ovo injection) amino acids on hatchability, some productive and physiology traits of broiler.** International Journal for Sciences and Technology Vol. 8, No. 1, 2013.
- AL-MURRANI, W.K. **Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl.** Br Poult Sci. Mar;23(2):171-4, 1982
- ALVES, L. K. S. *et al.* **In-ovo feeding: a review.** Veterinária Notícias, 26(1), 18-18, 2020.
- ATAN, H.; KOP-BOZBAY, C. **Beta alanine effects immediately pre- and post hatch on chick quality, carcass yield and meat quality in broilers.** South African Journal of Animal Science, 51 (No. 1), 2021.
- BARBOSA, V.M. Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. FEP/MVZ, UFMG. Belo Horizonte, 2011.
- BHANJA, S.K. *et al.* **Modulation of post hatch-growth and immunocompetence through in ovo injection of limiting amino acids in broiler chickens.** Indian Journal of Animal Sciences 82 (9): 993–998, 2012.
- 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.
- 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. *et al.* **Accelerating embryonic growth during incubation following prolonged egg storage.** 2. Embryonic growth and metabolism. Poult. Sci. 82:1869–1878, 2003.
- CIROTTI, C.; ARANGI, I. **How do avian embryos breath? Oxygen transport in the blood of early chick embryos.** Comparative Biochemistry and Physiology, v.94A, p.607-613, 1989.
- COSKUN, I.; AKKAN, A.; ERENER, G. **Effects of in ovo injection of lysine and methionine into fertile broiler (parent stock) eggs on hatchability, growth performance, caecum microbiota, and ileum histomorphology.** R. Bras. Zootec., 47:e20170220, 2018.
- DECUYPERE, E.; MICHELS, H. **Incubations Temperature as a Management Tool: A Review.** World's Poultry Science Journal, vol 48, pg 29-38, 1992.
- DEEMING, D.C. **Avian incubation: behaviour, environment, and evolution.** Lincoln: Oxford University Press, p. 440, 2002.
- DOS SANTOS, T.T. *et al.* **Influence of in ovo inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance.** J. Appl. Poult. Res. 19 :1–12, 2010.
- EBRAHIMI, M. *et al.* **The effect of L-lysine in ovo feeding on body weight characteristics and small intestine morphology in a day-old Ross broiler chicks.** Revue Méd. Vét., 168, 4-6, 116-124, 2017.
- FAO. **AGRIBUSINESS HANDBOOK - Poultry Meat & Eggs,** 2010. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/012/al175e/al175e.pdf>>

FERKET, P. *et al.* **Effect of in ovo feeding solution osmolality on hatching turkeys.** Journal of Poultry Science, v. 84, p. 118, 2005.

FIUZA, M.A. *et al.* **Efeito das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos 28 de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 58, p. 408-413, 2006.

FOYE, O. T. **The Biochemical and Molecular Effects of Amnionic Nutrient Administration, “In Ovo Feeding” on Intestinal Development and Function and Carbohydrate Metabolism in turkey Embryos and Poults.** Thesis (PhD) - North Carolina State University, Raleigh. 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 to transepithelial ion transport and barrier function during embryonic development.** J. Biomed. Biotechnol. 20:1–12, 2010.

GAO, T. *et al.* **Effect of in ovo feeding of l-arginine on the hatchability, growth performance, gastrointestinal hormones, and jejunal digestive and absorptive capacity of posthatch broilers.** J. Anim. Sci. 2017.95:3079–3092, 2017.

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

GONÇALVES, F. M. *et al.* **Nutrição in ovo: estratégia para nutrição de precisão em sistemas de produção avícola.** Archivos de Zootecnia, 62(237), 54-55. 2013.

GONZALES, E. **Análise de problemas de eclodibilidade e fertilidade de plantéis avícolas por métodos de embriodiagnóstico.** In: X Congresso Nacional de Zootecnia – Zootec. Anais eletrônicos, Campo Grande, 2005.

GUERREIRO, S. N. N. *et al.* **Nutrição in ovo na avicultura industrial.** Anais do VII CONCCEPAR: Congresso Científico da Região Centro-Ocidental do Paraná / Faculdade Integrado de Campo Mourão, 2016.

HAN, G. *et al.* **L-Leucine acts as a potential agent in reducing body temperature at hatching and affords thermotolerance in broiler chicks.** Comp. Biochem. Physiol., A. 2016.

KARAMIK, S.; KOP-BOZBAY, C. **Response of broiler chicks to L-Glutamine feeding in the immediate pre- and post-hatch periods.** South African Journal of Animal Science 2020, 50 (No. 6), 2020.

LI, Y. *et al.* **In ovo L-arginine supplementation stimulates myoblast differentiation but negatively affects muscle development of broiler chicken after hatching.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 100 (2016) 167–177. 2016.

LU, J. W.; MCMURTRY, J. P.; COON, C. N. **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. 2007.

- MIRANDA, H.A.F. *et al.* **Efeitos da nutrição in ovo no desempenho de frangos de corte: uma revisão.** Research, Society and Development, v. 10, n. 2, e38810212307, 2021.
- MIRI, B. *et al.* **Effects of low eggshell temperatures during incubation, in ovo feeding of L-arginine, and post-hatch dietary guanidinoacetic acid on hatching traits, performance, and physiological responses of broilers reared at low ambient temperature.** Poultry Science 101:101548, 2022.
- 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.** Biochemical and Cellular Archives 20, 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.
- MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; CARGNELUTTI FILHO, A. **Hematological values and body, heart and liver weights of male and female broiler embryos of young and old breeder eggs.** Brazilian Journal of Poultry Science, v.11, n.1, p.7-15, 2009.
- NAYAK, N. *et al.* **Comparative effect of arginine and/or tryptophan in ovo feeding on hatchability percentage, growth performance and economic importance of commercial broiler.** Indian Journal of Animal Sciences 87 (2): 153–158, 2017.
- OHTA, Y. *et al.* **Effect of Amino Acid Injection in Broiler Breeder Eggs on Embryonic Growth and Hatchability of Chicks.** Poultry Science 78:1493–1498, 1999.
- OHTA, Y.; KIDD, M.T. **Optimum Site for In Ovo Amino Acid Injection in Broiler Breeder Eggs.** Poultry Science 80:1425–1429, 2001.
- OLIVEIRA, J.E. **Effects of In ovo Feeding on Turkey Embryos Development, Energy Status, Intestinal Maturation, Gene Expression and Post-hatch Development.** Dissertation (Doctor of Philosophy) - Faculty of North Carolina State University, 2007.
- OMIDI, S. *et al.* **The impact of in ovo injection of l-arginine on hatchability, immune system and caecum microflora of broiler chickens.** J Anim Physiol Anim Nutr. 2019;00:1–8. 2019.
- PALANIYANDI, K. *et al.* **Effect of In-ovo injection of Glucose, Lysine, Threonine and β -hydroxy- β -methylbutarate (HMB) on the Morphometry of Digestive Organs in Commercial Broilers.** International Journal of Livestock Research, 8(9), 177-183, 2018.
- PEDROSO, A.A. *et al.* **Inoculação de nutrientes em ovos de matrizes pesadas.** R. Bras. Zootec., v.35, n.5, p.2018-2026, 2006.
- PEEBLES E.D.; BRAKE, J. **Eggshell quality and hatchability in broiler breeder eggs.** Poultry Science 66: 596-604., 1987.
- ROMANOFF A.L.; ROMANOFF, A.J. **The Avian Egg.** New York: John Wiley and Sons. 918 p., 1949.
- RUFINO, J.P.F. **Effect of In Ovo Feeding of L-Glutamine to Chick Embryos.** Brazilian Journal of Poultry Science, v.21, n. 4, 001-008. 2019.
- SALMANZADEH, M. *et al.* **The Effects of in ovo Administration of Glutamine on Hatchability, Subsequent Performance, Digestive Enzyme Activities, Immune**

Response and some of Blood Parameter in Broiler Chickens. Iranian Journal of Applied Animal Science, 10(3), 535-545, 2020.

SALMANZADEH, M. *et al.* **The effects of in ovo feeding of glutamine in broiler breeder eggs on hatchability, development of the gastrointestinal tract, growth performance and carcass characteristics of broiler chickens.** Arch. Anim. Breed., 59, 235–242, 2016.

SCHNEIDER, H.; TATTRIE, N. H. **Mutual solubility of the lipid components of egg yolk low-density lipoprotein.** Canadian Journal of Biochemistry, 46(8), 979–982, 1968.

SCOTTÁ, B.A. *et al.* **Nutrição pré e pós-eclosão em aves.** PUBVET, Londrina, V. 8, N. 8, Ed. 257, Art. 1702, Abril, 2014.

SHAFEY, T.M., SAMI, A.S., ABOUHEIF, M.A. **Effects of in ovo Feeding of L-Glutamine on Hatchability Performance and Hatching Time of Meat-Type Breeder Eggs.** Journal of Animal and Veterinary Advances 12(1): 135-139. 2013.

SÖZCÜ, A.; AK, İ. **Effects of in-ovo injection of glutamine on late-term embryo development, hatchability, one-day old chick quality and small intestine morphological traits in broilers.** Europ.Poult.Sci., 84. ISSN 1612-9199, 2020.

SUBRAMANIYAN, S.A. *et al.* **Effect of In Ovo Injection of L-Arginine in Different Chicken Embryonic Development Stages on Post-Hatchability, Immune Response, and Myo-D and Myogenin Proteins.** Animals, 9, 357. 2019.

TAHMASEBI, S.; TOGHYANI, M. **Effect of arginine and threonine administered in ovo on digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2015.

UNI, Z., *et al.* **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, B.S. *et al.* **Administração In Ovo De Glutamina e De Lisina Sobre O Desenvolvimento Da Mucosa Intestinal De Frangos Na Primeira Semana Pós-Eclosão.** ARS VETERINARIA, Jaboticabal, SP, Vol. 22, nº3, 242-247, 2006.

VIEIRA, S.L. **Chicken Embryo Utilization of Egg Micronutrients.** Brazilian Journal of Poultry Science, v. 9, n. 1, 01-08, 2007.

VIEIRA, S.L.; MORAN JÚNIOR, E.T. **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.

WILSON, H.R. **Effects of Maternal Nutrition on Hatchability.** Poultry Science, v.76: 134-143, 1997.

YADGARY, L.; WONG, E. A.; UNI, Z. **Temporal transcriptome analysis of the chicken embryo yolk sac.** *BMC Genomic* 15:1–15, 2014.

ZHAO, M.M. *et al.* **Effects of in ovo feeding of creatine pyruvate on the hatchability, growth performance and energy status in embryos and broiler chickens.** *Animal*, 11:10, pp 1689–1697, 2017.

SEGUNDA PARTE

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

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

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de metanálise, o efeito da inoculação de aminoácidos em ovos fertilizados sobre as características de eclosão e desempenho pós-eclosão de frangos de corte. A busca de artigos científicos foi realizada em janeiro de 2022 em diferentes bases de dados utilizando as palavras-chave ((*amino acid OR amino acids*) AND “*in ovo*”). Apenas artigos que compararam soluções contendo aminoácidos isolados com grupo controle (inoculação do veículo) considerando a eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso ou conversão alimentar foram selecionados. A metanálise foi realizada utilizando o modelo de efeitos aleatórios, considerando as diferenças entre o grupo tratado e o controle. A análise global mostrou que a inoculação de aminoácidos não influenciou ($P > 0.05$) a eclodibilidade, porém melhorou ($P < 0.01$) o peso a eclosão, o ganho e peso e a conversão alimentar. Na análise de subgrupos, apenas a alanina aumentou ($P < 0.01$) a eclodibilidade. A arginina, lisina, carnitina, creatina, alanina e metionina aumentaram ($P < 0.05$) o peso à eclosão, enquanto a glicina e a isoleucina reduziram ($P < 0.05$). Maior ganho de peso foi observado ($P < 0.05$) com glutamina, creatina ($P < 0.01$), metionina ($P < 0.01$) e lisina e menor conversão alimentar ($P < 0.05$) com glutamina, arginina e treonina. Melhores resultados são observados ($P < 0.05$) quando a água deionizada é utilizada como veículo, a inoculação ocorre no albúmen entre o 7º e 14º dia de incubação em ovos proveniente de galinhas com idade entre 41 e 60 semanas. Conclui-se que a inoculação *in ovo* de aminoácidos melhora os parâmetros de eclosão e pós-eclosão de frangos

26 de corte, com melhores resultados observados com a alanina, carnitina, glutamina, arginina,
27 creatina e lisina.

28

29 *Keywords:* embrião de galinha, eclodibilidade, inoculação, performance

30 1. Introdução

31 Nos últimos anos houve um aumento exponencial no consumo de carne de frango
32 devido ao seu alto valor nutricional, reduzido preço de mercado, baixo teor de gordura, alto teor
33 em proteína e maior produtividade em curto tempo (Garcia e Gomes, 2019; Meyer et al., 2019).
34 O sucesso da avicultura mundial é atribuído ao melhoramento genético das linhagens modernas
35 de frango de corte, cujo foco é o crescimento rápido e máximo desempenho baseado na melhor
36 conversão alimentar (Givisiez et al., 2020). Como reflexo dessa mudança, as exigências
37 nutricionais das aves aumentaram. Considerando que o teor de nutrientes do ovo pode não
38 acompanhar as necessidades de aves de elevado potencial genético, deficiências nutricionais
39 em embriões podem estar relacionadas ao baixo desempenho pós-eclosão. Nesse sentido, a
40 técnica de nutrição *in ovo* pode amenizar esse problema (Tahmasebi e Toghyani, 2015).

41 Sabe-se que durante a eclosão o embrião utiliza a glicose armazenada como glicogênio
42 no fígado e nos músculos como fonte de energia (Moran Jr., 2007), uma vez que a
43 disponibilidade de oxigênio é limitada nesse momento (Zhao et al., 2017; Givisiez et al., 2020).
44 Como a quantidade de carboidratos no ovo é muito baixo (Sözcü e Ak, 2020), a produção de
45 glicose durante o desenvolvimento embrionário depende majoritariamente da gliconeogênese
46 hepática a partir de aminoácidos (Zhao et al., 2017). Desse modo, o uso destes compostos para
47 atender a demanda energética limita o conteúdo disponível para a síntese proteica necessária
48 para o crescimento muscular do embrião, refletindo em menor peso à eclosão (Uni e Ferket,
49 2004; Uni et al., 2005). Nesse caso, a inoculação *in ovo* de aminoácidos pode ser uma estratégia
50 para aumentar a disponibilidade de aminoácidos e melhorar o peso à eclosão e
51 consequentemente o desempenho pós-eclosão das aves (Subramaniyan et al., 2019).

52 Embora essa técnica seja promissora, resultados inconsistentes são encontrados na
53 literatura. Al-Asadi (2013) obteve resultados positivos ao injetar 20 mg de arginina no saco
54 vitelínico no 18º dia de incubação, com aumento de eclodibilidade, peso à eclosão e ganho de

55 peso até os 42 dias de idade de frangos de corte. Já Gao et al. (2017) observaram maior ganho
56 de peso, porém com redução na eclodibilidade ao inocularem 12 mg de arginina no líquido
57 amniótico na mesma idade embrionária. Subramaniyan et al. (2019) observaram maior
58 eclodibilidade ao injetarem 0,1 mg de arginina no 14º dia de incubação e 2,5 mg no 18º dia,
59 mas verificaram redução desse parâmetro ao inocularem 1 mg no 8º dia de incubação. Nayak
60 et al. (2017) observaram maior ganho de peso aos 21 dias de idade quando inocularam 2,5 mg
61 de arginina no âmnion no 18º dia de incubação, mas houve redução desse parâmetro quando
62 1,5 mg de arginina foi inoculada no mesmo local, porém no 16º dia de incubação (Li et al.,
63 2016). Resultados variáveis também foram encontrados com glutamina (Pedroso et al., 2006;
64 Shafey et al., 2013; Salmanzadeh et al., 2016; Rufino et al., 2019b; Sözcü e Ak, 2020), lisina
65 (Vieira et al., 2006; Bhanja et al., 2012; Al-Asadi, 2013; Ebrahimi et al., 2017; Palaniyandi et
66 al., 2018; Coskun et al., 2018), e diversos outros aminoácidos. Esta variabilidade está associada
67 não só ao tipo e a quantidade de aminoácido inoculado, mas também a fatores como o local *in*
68 *ovo* de inoculação, idade embrionária, volume, osmolaridade e composição da solução
69 inoculada (Ferket et al., 2005). Sendo assim, para melhor aplicabilidade da técnica de nutrição
70 *in ovo* com aminoácidos, é importante definir quais aminoácidos e qual metodologia
71 proporcionam os melhores resultados. O objetivo do presente estudo foi verificar, por meio de
72 uma metanálise, se a inoculação *in ovo* de aminoácidos é capaz de melhorar a eclodibilidade,
73 peso à eclosão e o desempenho pós-eclosão e indicar qual a técnica mais adequada para o uso
74 destes nutrientes em frangos de corte.

75

76 **2. Material e Métodos**

77 *2.1 Estratégia de busca*

78 Em janeiro de 2022 foi realizada uma busca eletrônica de forma independente por três
79 revisores nas seguintes bases de dados: Embase (<https://embase.com/>), Google Acadêmico

80 (<https://scholar.google.com.br/>), SciELO (<https://scielo.org/>), Science Direct
81 (<https://www.sciencedirect.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Periodicos Capes
82 (<https://www.periodicos.capes.gov.br/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Web of
83 Science (<http://isiknowledge.com/>). A seguinte combinação de palavras-chave foi utilizada:
84 (“*amino acid*” OR “*amino acids*”) AND (“*in ovo*”). Não houve restrições quanto à data e idioma
85 de publicação. Em decorrência do grande número de estudos devolvidos no Google Acadêmico
86 e Periódicos Capes, a busca pelo termo “*in ovo*” presente apenas no título foi realizada.

87

88 2.2 Seleção dos artigos

89 Todos as referências foram importadas para o EndNote© - X9 (Clarivate Analytics -
90 Filadélfia, EUA, 2018). Após a remoção das duplicatas, os estudos foram selecionados com
91 base nos critérios de elegibilidade definidas pela questão PICO (Santos et al., 2007):
92 *Population*: ovos de frangos de corte fertilizados; *Intervention*: inoculação com soluções
93 contendo aminoácidos; *Control*: grupo controle contendo somente o veículo de inoculação;
94 *Outcome*: eclodibilidade, peso à eclosão ou ganho de peso ou conversão alimentar apresentados
95 aos 21, 35 ou 45 dias de idade das aves. Inicialmente a seleção foi realizada com informações
96 contidas somente no título e no resumo. Adicionalmente, estudos que não eram caracterizados
97 como experimentais ou que inocularam somente soluções contendo aminoácidos combinados
98 entre si ou combinados com outras substâncias foram excluídos. Após a seleção, um total de 34
99 estudos foram mantidos. Em seguida, buscas por outros estudos também foram realizadas nas
100 seções Referências dos artigos selecionados. Nenhum estudo adicional foi encontrado. O
101 fluxograma da busca e seleção dos estudos está apresentado na Figura 1 e as principais
102 características dos artigos selecionados estão apresentadas na Tabela 1.

103

104 2.3 Critérios de qualidade

105 Durante a análise da seção material e métodos de cada estudo, a análise da qualidade da
106 evidência foi realizada. Os itens pontuados foram estabelecidos com base em critérios
107 adaptados da revisão sistemática de Retes et al. (2018):

108 1) Tamanho da amostra: Estudos que utilizaram mais de 100 ovos por tratamento receberam 2
109 pontos, e quando o número de ovos foi inferior a 100 ou quando o número de ovos não foi
110 claramente descrito no texto, o estudo recebeu 1 ponto.

111 2) Randomização: Os estudos que demonstraram randomização receberam 2 pontos, e aqueles
112 que não foram randomizados ou aqueles em que a randomização não foi claramente
113 mencionada no texto receberam 1 ponto.

114 3) Volume inoculado: Os estudos que mencionaram o volume inoculado receberam 2 pontos, e
115 quando o volume inoculado não foi relatado ou não foi claramente mencionado no texto, o
116 estudo recebeu 1 ponto.

117 4) Veículo de diluição: os estudos que detalharam o diluente utilizado receberam 2 pontos, e
118 quando o diluente não foi relatado ou não foi claramente mencionado no texto, o estudo recebeu
119 1 ponto.

120 5) Local de inoculação: Os estudos que mencionaram o local de inoculação receberam 2 pontos,
121 e quando o local de inoculação não foi claramente relatado, o estudo recebeu 1 ponto.

122 6) Idade do embrião: Os estudos que mencionaram a idade do embrião no momento da
123 inoculação receberam 2 pontos, e quando a idade do embrião não foi claramente relatada, o
124 estudo recebeu 1 ponto.

125 7) Idade da galinha: Os estudos que indicaram a idade da galinha receberam 2 pontos, e quando
126 a idade da galinha não foi claramente relatada, o estudo recebeu 1 ponto.

127 8) Peso do ovo: Os estudos que relataram o peso do ovo no início da incubação receberam 2
128 pontos, e os que não informaram receberam 1 ponto.

129 9) Linhagens: Os estudos que identificaram a linhagem receberam 2 pontos, e os que não
130 relataram essa informação receberam 1 ponto.

131 10) Condições de incubação: os estudos que relataram temperatura e umidade durante a
132 incubação receberam 2 pontos e os que não relataram pelo menos um parâmetro, 1 ponto.

133 11) Osmolaridade das soluções inoculadas: estudos que apresentaram a osmolaridade das
134 soluções inoculadas receberam 2 pontos e os que não relataram, apenas 1 ponto.

135 A pontuação máxima foi de 22 pontos e a mínima de 11 pontos (Tabela 2). Baseado
136 nesta pontuação, os estudos foram divididos em três categorias: alta qualidade de evidência (18
137 ou mais pontos); qualidade de evidência intermediária (entre 14 e 17 pontos) e baixa qualidade
138 de evidência (entre 11 e 13 pontos).

139

140 2.4 *Metanálise*

141 A metodologia utilizada para a construção do banco de dados seguiu o modelo descrito
142 na literatura (Sauvant et al., 2008). As informações necessárias para construir o banco de dados
143 foram obtidas nas seções de Material e Métodos e Resultados dos estudos selecionados. Para a
144 análise, foram considerados o tipo de aminoácido inoculado, o escore de qualidade do estudo,
145 o peso médio dos ovos, a idade das galinhas, a linhagem utilizada, o local e o veículo de
146 inoculação *in ovo* e a idade embrionária durante a inoculação. Também foram registrados o n,
147 a média e o desvio-padrão de cada grupo tratado e também do grupo inoculado somente com o
148 veículo (controle). Para ganho de peso, as médias foram divididas pela idade das aves e
149 avaliadas em g/dia. Quando o ganho de peso e a conversão alimentar foram avaliados em mais
150 de uma idade, considerou-se a média das idades.

151 Os grupos comparados foram o grupo tratado (inoculado com aminoácido) com o grupo
152 controle (ovos inoculados apenas com o veículo de diluição). Para estudos que avaliaram mais
153 de um grupo de tratamento (por exemplo, diferentes tipos ou doses de aminoácidos inoculados),

154 foi registrada mais de uma comparação. Exceto para eclodibilidade, em cada comparação foram
155 selecionados o tamanho da amostra (n), a média e o desvio padrão (DP). Nos casos em que o
156 valor do DP não estava disponível, este foi estimado com base no erro padrão (EP) ou o
157 coeficiente de variação (CV), usando as respectivas fórmulas: $DP = EP \times \sqrt{n}$ (onde n =
158 número de repetições) ou $DP = (CV \times \text{média}) / 100$. Quando EP e CV também foram omitidos,
159 utilizou-se a média do DP dos demais estudos (Idris e Robertson, 2009). Para eclodibilidade,
160 considerou-se o número de sucessos e fracassos de cada grupo comparado.

161 Todas as informações foram registradas conforme apresentadas nos artigos originais,
162 exceto para o ganho de peso, cujos valores foram padronizados em g/dia. A qualidade da
163 evidência dos estudos (alta, intermediária e baixa), o peso dos ovos (46 a 47 g; 57 a 66 g; 70 a
164 72 g) e a idade das matrizes (26 a 40 semanas; 41 a 60 semanas; idade não relatada no estudo)
165 foram divididos em 3 categorias, enquanto a idade embrionária de inoculação (inoculação entre
166 o 7º e o 14º dia e inoculação entre o 15º e o 18º dia) foi dividida em 2 categorias.

167 Os dados foram analisados usando o software STATA 17 (StataCorp, 2022). A análise
168 foi realizada considerando-se a diferença média padrão (SMD) entre o grupo inoculado com
169 aminoácido e o grupo controle, com exceção da eclodibilidade, a qual foi analisada por *Odds*
170 *Ratio*. O modelo de efeitos aleatórios foi usado, com intervalo de confiança de 95% e os
171 apresentados em *Forest Plots*. Os dados foram inicialmente analisados de maneira global e em
172 seguida particionados em subanálises de acordo com as variáveis explicativas: tipo de
173 aminoácido inoculado; qualidade da evidência; peso dos ovos; idade e linhagem das matrizes;
174 local de inoculação no ovo; veículo utilizado para diluição e idade do embrião na inoculação.
175 O viés de publicação foi avaliado usando o gráfico *Funnel Plot* e testes de Begger
176 (eclodibilidade) e Egger (demais variáveis).

177

178 3. Resultados

179 3.1. Características dos estudos selecionados

180 Os aminoácidos até então avaliados de maneira isolada na nutrição *in ovo* foram a
181 alanina, arginina, carnitina, creatina, glutamina, leucina, lisina, treonina e triptofano (Tabela 1).
182 Os mais avaliados foram a glutamina (12 estudos) e a arginina (11 estudos).

183 Quanto às características metodológicas, todos os estudos relataram o número de ovos
184 por tratamento, sendo que o menor número foi de 10 ovos (Han et al., 2016) e o maior de 1600
185 ovos (Santos et al., 2010). Todos também relataram o volume de inoculação, sendo o menor de
186 0,1 mL/ovo (Dooley et al., 2011; Subramaniyan et al., 2019; Zhang et al., 2020) e o maior de
187 1,0 mL/ovo (Al-Asadi, 2013; Ebrahimi et al., 2017; Kop-Bozbay et al., 2018; Omidí et al.,
188 2019; Karamik et al., 2020; Atan e Kop-Bozbay, 2021). O local de inoculação foi relatado em
189 todos os estudos, exceto um (Subramaniyan et al., 2019), sendo o líquido amniótico o principal
190 (21 estudos), seguido pela gema (5 estudos), saco aéreo (3 estudos), cavidade alantóide e
191 albúmen (2 estudos cada). O veículo de diluição também foi relatado em todos os estudos,
192 exceto um (Dooley et al., 2011), sendo a solução salina o principal utilizado (21 estudos),
193 seguido da água destilada (5 estudos), água esterilizada (4 estudos), água deionizada (2 estudos
194 e phosphate buffered saline (PBS - 1 estudo). A idade embrionária foi relatada em todos os
195 estudos, sendo que a maioria fez a inoculação no terço final da incubação (entre 15 e 18 dias -
196 25 estudos). Em um estudo (Subramaniyan et al., 2019) a inoculação foi realizada em três idades
197 embrionárias diferentes (8, 14 e 18 dias). A idade das galinhas foi apresentada em 22 estudos,
198 sendo que a maioria relatou o uso de ovos provenientes de matrizes com idade entre 26 e 49
199 semanas. Apenas 1 estudo (Coskun et al., 2018) utilizou ovos de matrizes com 60 semanas de
200 idade. Em 12 estudos a idade das matrizes não foi apresentada. O peso do ovo foi apresentado
201 em 15 estudos, variando entre 45,6 g e 71,0 g. A linhagem Ross foi a mais utilizada (15 estudos),
202 seguida por Cobb (6 estudos), Arbor Acres (4 estudos) e Rode Island (2 estudos). Seis estudos
203 não relataram a linhagem utilizada. A temperatura de incubação variou entre 37,2 e 37,8 °C.

204 Apenas 6 estudos não informaram essa condição. A umidade relativa durante a incubação
205 variou de 55 a 75%. Apenas 8 estudos não apresentaram essa informação. Somente 3 estudos
206 (Rufino et al., 2019b; Salmanzadeh et al., 2016; Salmanzadeh et al., 2020) informaram a
207 osmolaridade das soluções inoculadas, que variou de 239 a 513 mOsm.

208 Em relação aos resultados avaliados, a eclodibilidade foi mensurada em 32 estudos, o
209 peso à eclosão em 28 estudos e o desempenho pós-eclosão foi avaliado em 16 estudos. A
210 maioria dos estudos (27) foram classificados como de alta qualidade da evidência, sendo que
211 apenas 1 (Salmanzadeh et al., 2016) obteve a máxima pontuação (22 pontos).

212

213 3.2. Principais resultados dos experimentos avaliados

214 Os principais resultados dos estudos estão resumidos na Tabela 3. A eclodibilidade
215 aumentou em 3 estudos que fizeram inoculação de lisina (Al-Asadi, 2013; Ebrahimi et al., 2017;
216 Palaniyandi et al., 2018), em 3 que inocularam arginina (Al-Asadi, 2013; Subramaniyan et al.,
217 2019; Mohammed e Al-Hassani, 2020), em 2 que inocularam glutamina (Salmanzadeh et al.,
218 2016; Sözcü e Ak, 2020) e em 1 estudo que inoculou treonina (Palaniyandi et al., 2018).
219 Redução da eclodibilidade foi demonstrada em 2 estudos com arginina (Gao et al., 2017;
220 Subramaniyan et al., 2019), 1 estudo com lisina (Ebrahimi et al., 2017) e 1 estudo com
221 glutamina (Rufino et al, 2019b). Em 22 estudos, a inoculação *in ovo* de aminoácidos não
222 influenciou a eclodibilidade.

223 O peso à eclosão foi aumentado em 3 estudos que utilizaram arginina (Al-Asadi, 2013;
224 Subramaniyan et al., 2019; Mohammed e Al-Hassani, 2020), 3 que utilizaram glutamina
225 (Salmanzadeh et al., 2016; Salmanzadeh et al., 2020; Sözcü e Ak, 2020), 1 que inoculou lisina
226 (Al-Asadi, 2013), 1 que utilizou carnitina (Shafey et al., 2010) e 1 que inoculou creatina (Zhao
227 et al., 2017). Houve redução do peso à eclosão em 1 estudo que inoculou glutamina (Sözcü e
228 Ak, 2020) e em 1 estudo que inoculou arginina (Subramaniyan et al., 2019). Nos demais estudos

229 não houve diferença significativa entre os tratamentos inoculados e seus respectivos grupos
230 controle.

231 O ganho de peso pós-eclosão foi aumentado em 5 estudos que inocularam arginina (Al-
232 Asadi, 2013; Tahmasebi e Toghyani, 2015; Nayak et al., 2017; Gao et al., 2017; Gao et al.,
233 2018), em 2 estudos que utilizaram glutamina (Salmanzadeh et al., 2016; Salmanzadeh et al.,
234 2020), em 1 estudo que inoculou lisina (Al-Asadi, 2013) e em 1 estudo que utilizou treonina
235 (Tahmasebi e Toghyani, 2015). A redução do ganho de peso pós eclosão foi observada apenas
236 em 1 estudo que utilizou arginina (Li et al., 2016). Dois estudos relataram melhora da conversão
237 alimentar utilizando glutamina (Salmanzadeh et al., 2016; Salmanzadeh et al., 2020).

238

239 3.3 *Metanálise*

240 Em todas as análises, elevada heterogeneidade ($P < 0.01$) entre os estudos foi observada
241 (Figuras 2 a 5). Na Tabela 4 estão apresentados os principais resultados obtidos com a
242 metanálise, considerando o tipo de aminoácido e a metodologia *in ovo* utilizada.

243

244 *Eclodibilidade*

245 Dos 32 estudos que avaliaram a eclodibilidade, 92 comparações entre a inoculação de
246 aminoácidos e o grupo controle foram analisadas (Figura 2). A análise geral indicou que a
247 inoculação de aminoácidos não influenciou ($P > 0.05$) a eclodibilidade dos ovos (SMD = 0.14,
248 IC 95% = -0.07 a 0.36), fato este comprovado ($P > 0.05$) em estudos com alta qualidade de
249 evidência. Na análise de subgrupos, considerando o grupo de aminoácidos, apenas a inoculação
250 de alanina aumentou ($P < 0.01$) a eclodibilidade, embora apenas 3 comparações tenham sido
251 realizadas. Os demais aminoácidos não influenciaram ($P > 0.05$) a eclodibilidade.

252 Considerando o tipo de material utilizado, a inoculação de aminoácidos aumentou a
253 eclodibilidade ($P < 0,05$) quando os ovos férteis estavam com peso entre 57 e 66 gramas no

254 início da incubação. Não houve influência da inoculação de aminoácidos em ovos muito leves
255 (46 e 47 gramas) ou mais pesados (70 a 72 gramas), embora poucos estudos (2 a 3) tenham
256 utilizado essa categoria de ovos. A inoculação de soluções contendo aminoácidos também
257 aumentou ($P < 0.01$) a eclodibilidade de ovos provenientes de matrizes mais velhas (entre 41 e
258 60 semanas de idade). Aumento da eclodibilidade também foi observada quando a linhagem
259 Cobb ($P < 0.05$) foi utilizada e menor ($P < 0.01$) quando a linhagem Rhode Island Red foi
260 utilizada.

261 Quanto à metodologia utilizada, efeito positivo sobre a eclodibilidade foi observada (P
262 < 0.01) quando as soluções foram inoculadas no albúmen (10 comparações), utilizando água
263 destilada ($P = 0.01$) ou deionizada ($P < 0.01$) como diluente. Maior eclodibilidade também foi
264 observada ($P < 0.05$) quando os aminoácidos foram inoculados entre o 7° e 14° dias de
265 incubação.

266 Não foi observada distribuição assimétrica ($P > 0.05$) no gráfico de funnel plot (Figura
267 6).

268

269 *Peso à eclosão*

270 Um total de 86 comparações foram analisadas (Figura 3). A análise geral indicou que a
271 inoculação *in ovo* de aminoácidos aumentou ($P < 0.01$) o peso à eclosão (SMD = 0.78, IC 95%
272 = 0.40 a 1.16), resultado confirmado ($P < 0.01$) em estudos classificados como de alta evidência.
273 Melhores resultados ($P < 0.05$) foram observados com a arginina (21 comparações), lisina (9
274 comparações), carnitina (7 comparações), creatina (4 comparações), alanina (3 comparações),
275 e metionina (1 comparação). Menor peso à eclosão foi observado ($P < 0.05$) com isoleucina (2
276 comparações) e glicina (1 comparação). Os demais aminoácidos não influenciaram ($P > 0.05$)
277 o peso à eclosão.

278 Quanto ao material utilizado nos experimentos, maior peso à eclosão foi observada (P
279 < 0,05) com a inoculação in ovo de aminoácidos, independente do peso do ovo e da idade das
280 matrizes. Melhores resultados foram observados (P < 0.01) nas linhagens Ross (36
281 comparações) e Arbor Acres (8 comparações).

282 Quanto à metodologia utilizada, a inoculação in ovo com aminoácidos aumentou (P <
283 0.05) o peso à eclosão quando as soluções com aminoácidos foram inoculadas no âmion (38
284 comparações), albúmen (10 comparações) e no saco alantóico (3 comparações). Resultados
285 positivos foram observados (P < 0.05) com todos os veículos utilizados, com exceção (P > 0.05)
286 da água estéril (13 comparações). Resultados positivos também foram observados (P < 0,01)
287 independentemente da idade embrionária de inoculação.

288 Não foi observada distribuição assimétrica (P > 0.05) no gráfico de funnel plot (Figura
289 6).

290

291 *Ganho de peso*

292 Um total de 37 comparações foram analisadas (Figura 4). A análise geral indicou que a
293 injeção *in ovo* com aminoácidos aumentou (P < 0.01) o ganho de peso pós-eclosão em frangos
294 de corte (SMD = 1.06, IC 95% = 0.41 a 1.70), resultado confirmado (P < 0.01) em estudos
295 classificados como de alta evidência. Melhores resultados foram observados (P < 0,05) com a
296 glutamina (13 comparações), creatina, lisina (3 comparações cada) e metionina (1 comparação).

297 Quando ao material utilizado, melhores resultados foram observados (P < 0.01) em ovos
298 mais pesados (acima de 57 gramas) provenientes de matrizes mais velhas (acima de 40
299 semanas) e da linhagem Cobb.

300 Quanto à metodologia, maior ganho de peso foi observado (P < 0.01) quando as soluções
301 contendo aminoácidos foram inoculadas no albúmen (10 comparações), gema (2 comparações)

302 ou câmara de ar (2 comparações), utilizando água deionizada (10 comparações) ou destilada (2
303 comparações) como veículos e aplicadas entre o 7º e 14º dias de incubação (12 comparações).

304 Não foi observada distribuição assimétrica ($P > 0.05$) no gráfico de funnel plot (Figura
305 6).

306

307 *Conversão alimentar*

308 Um total de 30 comparações foram analisadas (Figura 5). A análise geral mostrou que
309 a inoculação *in ovo* de aminoácidos melhorou ($P < 0.01$) a conversão alimentar (SMD = -0.05,
310 IC 95% = -0.07 a -0.03), resultado confirmado ($P < 0.01$) em estudos classificados como de alta
311 evidência. Melhores resultados foram obtidos ($P < 0.05$) com glutamina (13 comparações),
312 arginina (5 comparações) e treonina (2 comparações).

313 Melhor conversão alimentar foi observada ($P < 0.01$) quando ovos mais pesados (acima
314 de 57 gramas; 20 comparações) provenientes de ovos de matrizes mais velhas (acima de 40
315 semanas; 12 comparações) e da linhagem Cobb (11 comparações) foram utilizados.

316 Melhores resultados foram observados ($P < 0.01$) quando as soluções foram inoculadas
317 no albúmen (10 comparações), âmnion (15 comparações) ou saco aéreo (2 comparações),
318 utilizando água deionizada (10 comparações) como veículo de diluição, entre o 7º e o 14º dia
319 de incubação.

320 Não foi observada distribuição assimétrica ($P > 0.05$) no gráfico de funnel plot (Figura
321 6).

322

323 **4. Discussão**

324 Os resultados do presente estudo demonstraram que a inoculação *in ovo* de aminoácidos
325 não prejudica a eclodibilidade e ainda melhora o peso à eclosão e o desempenho após a eclosão,
326 dependendo do tipo de aminoácido e da metodologia utilizada. Resultados positivos foram

327 observados com o uso de alanina, carnitina, glutamina, arginina, creatina e lisina, diluídos em
328 água deionizada e inoculados no albúmen entre o 7º e o 14º dias de incubação.

329 Apesar de não ser recente, a técnica de inoculação *in ovo* de nutrientes ainda apresenta
330 resultados divergentes, o que limita seu uso na prática comercial. Segundo Ferket et al. (2005)
331 fatores como o local de inoculação, idade embrionária, volume administrado, osmolaridade e
332 composição da solução são fontes significativas de variabilidade. A significativa discrepância
333 observada entre as metodologias utilizadas nos diferentes estudos explica boa parte da elevada
334 heterogeneidade observada na presente metanálise. Dessa forma, estudos que direcionem a
335 aplicação desta técnica na prática são importantes e este é o primeiro estudo a concluir qual a
336 metodologia é mais indicada para inocular aminoácidos em ovos embrionados de frangos de
337 corte.

338 Estudos com diversos aminoácidos podem ser encontrados na literatura. Com exceção
339 da glutamina e arginina, o número de artigos publicados com a maioria dos aminoácidos
340 (alanina, carnitina, creatina, isoleucina, metionina, glicina, leucina, triptofano e valina) é muito
341 baixo (1 ou 2 estudos), o que mostra a necessidade de mais pesquisas nessa área.

342 A glutamina demonstrou ser o mais eficaz em melhorar o desempenho pós-eclosão de
343 frangos de corte, provavelmente pela maior quantidade de estudos realizados até então. De
344 acordo com Salmandazeh et al. (2020), este é o aminoácido mais versátil do organismo, sendo
345 precursor de outros aminoácidos e fonte de energia para os enterócitos. Salmandazeh et al.
346 (2016) e Sözcü e Ak (2020) observaram maior desenvolvimento da mucosa intestinal em
347 frangos de corte ao inocularem glutamina em ovos fertilizados. Segundo os autores, esse
348 resultado explica o maior ganho de peso observado após a eclosão.

349 A arginina, por sua vez, é um aminoácido importante não só para síntese proteica, mas
350 também para diversas funções biológicas (Castro et al., 2020). Possui atividade secretagoga,
351 estimulando a liberação de hormônios hipofisários, como hormônio de crescimento, e

352 gastrointestinais como glucagon e insulina (Nayak et al., 2017; Gao et al., 2017). Segundo esses
353 autores, pode ainda servir como substrato para a síntese de outras moléculas, como ornitina,
354 que promove o aumento da síntese de DNA e proliferação celular, e creatina, associada ao
355 crescimento muscular. Yu et al. (2017) demonstraram também aumento das reservas de
356 glicogênio no fígado e no músculo peitoral e maior nível de glicose plasmática em pintos recém-
357 eclodidos de ovos injetados com arginina no âmion no 17º dia de incubação. Esse resultado
358 pode ser atribuído ao uso desse aminoácido como precursor gliconeogênico para a síntese de
359 glicose no terço final da incubação (Uni e Ferket, 2004; Lu et al., 2007).

360 O peso à eclosão está diretamente relacionado à síntese proteica no estágio final do
361 desenvolvimento embrionário. A quebra de proteínas que ocorre nesse período para atender a
362 demanda energética afeta negativamente o crescimento no final da incubação, podendo refletir
363 em menor peso do pinto à eclosão (Uni e Ferket, 2004; Uni et al., 2005). Sendo assim, a
364 suplementação de aminoácidos, tais como a arginina, no final do período embrionário pode
365 explicar o maior peso à eclosão observado no presente estudo. Apesar da análise deste estudo
366 não ter demonstrado aumento do ganho de peso pós-eclosão, foi constatado melhora da
367 conversão alimentar, o que indica que a inoculação da arginina também resultou em otimização
368 da performance das aves.

369 A carnitina é uma substância derivada da lisina e desempenha importante papel no
370 metabolismo energético (Shafey et al., 2010). Sua principal função é estimular a transferência
371 de ácidos graxos de cadeia longa através da membrana mitocondrial para a geração de energia
372 (Abouzed et al., 2019). No presente estudo, a carnitina demonstrou aumentar o peso dos pintos
373 à eclosão sem influenciar a eclodibilidade. Resultados semelhantes foram observados por
374 Shafey et al. (2010) ao inocularem carnitina no saco vitelínico no 17º dia de incubação. Além
375 disso, esses autores identificaram aumento do conteúdo de glicogênio e da concentração
376 plasmática do fator de crescimento semelhante a insulina-1 (IGF-1) nos pintos recém-eclodidos.

377 Sabe-se que o IGF-1 desempenha um papel importante no crescimento, metabolismo e
378 desenvolvimento dos tecidos (Liu et al. 2011). Além disso, o papel da carnitina sobre a oxidação
379 de ácidos graxos pode ter contribuído para aumentar a eficiência de utilização dos lipídeos da
380 gema no terço final da incubação.

381 Com relação à eclodibilidade, a alanina foi o único aminoácido que proporcionou
382 aumento nesse parâmetro, embora os estudos que avaliaram esse aminoácido não observaram
383 diferenças significativas nessa variável (Kop-Bozbay et al., 2018; Atan and Kop-Bozbay,
384 2021). Por outro lado, a inoculação *in ovo* de alanina aumentou o peso à eclosão. Kop-Bozbay
385 (2018) também observou aumento do peso à eclosão ao inocular alanina no âmnio no 18º dia
386 de incubação. Segundo o autor, além das propriedades anabólicas da alanina, o aumento do
387 peso pode ser atribuído ao fato de que a inoculação desse aminoácido na fase prévia à eclosão
388 atendeu a necessidade energética do embrião.

389 A creatina é um composto nitrogenado encontrado principalmente no músculo
390 esquelético, que participa do metabolismo energético (Zhang et al., 2016). No presente estudo,
391 efeitos positivos no peso à eclosão e ganho de peso pós eclosão foram verificados quando a
392 creatina foi inoculada em ovos fertilizados. Zhao et al. (2017) observaram maior peso a eclosão
393 de pintos provenientes de ovos inoculados com creatina no âmion no 17º dia de incubação.
394 Esses autores também observaram maior concentração de glicose e acúmulo de glicogênio
395 hepático nas aves recém-eclodidas, sugerindo menor necessidade do uso desses substratos
396 energéticos em função do maior aporte de energia proveniente das reservas de creatina fosfato
397 nos tecidos.

398 A inoculação de lisina também teve efeito positivo sobre o peso dos pintos à eclosão e
399 ganho de peso pós-eclosão, embora um único estudo tenha comprovado esse efeito (Al-Asadi,
400 2013). Esse aminoácido é considerado o primeiro limitante em frangos de corte, sendo utilizado
401 principalmente para a síntese proteica (Ebrahimi et al., 2017). Al-Asadi (2013) observaram

402 aumento do peso à eclosão e do ganho de peso até 42 dias de idade ao inocularem lisina no saco
403 vitelínico no 18º dia de incubação. Esse resultado provavelmente está relacionado ao aumento
404 de massa muscular decorrente da maior síntese proteica obtida com a suplementação *in ovo* de
405 lisina.

406 Outro ponto importante a ser considerado é a quantidade de aminoácido inoculado. A
407 presente metanálise sugere que a inoculação *in ovo* de aminoácidos não influencia a
408 eclodibilidade. Porém, este resultado deve ser avaliado com cautela. Ebrahimi et al. (2017)
409 observaram resultados controversos ao injetarem diferentes quantidades de lisina (10 a 50
410 mg/ovo) diluída em água destilada no âmnio no 14º dia de incubação. Menor eclodibilidade foi
411 observada ao inocularem 10, 30 e 50 mg de lisina, porém maior eclodibilidade foi observada
412 ao inocularem 20 mg/ovo. Segundo os autores, o provável desequilíbrio interno de aminoácidos
413 pode ter sido a causa dessa discrepância, principalmente na maior dose testada, onde a pior
414 eclodibilidade foi observada. Esse resultado sugere a condução de pesquisas com diferentes
415 quantidades de aminoácidos, assegurando a inoculação de uma relação adequada entre eles.

416 Também foram observados prejuízos na eclodibilidade quando maior quantidade de
417 arginina (12 mg comparado com 3 e 6 mg) diluída em solução salina foi inoculada no âmnio
418 no 17º dia de incubação (Gao et al., 2017). Esses autores atribuíram esse resultado à um possível
419 efeito tóxico desse aminoácido ou a um desequilíbrio interno causado pela inoculação de uma
420 dose excessiva. Um ponto importante a ser destacado é a osmolaridade da solução inoculada.
421 Dentre todos os estudos selecionados na presente metanálise, apenas 3 apresentou os valores de
422 osmolaridade (Rufino et al., 2019b; Salmanzadeh et al., 2016; Salmanzadeh et al., 2020). A
423 osmolaridade da solução está diretamente relacionada com o veículo e com a quantidade de
424 aminoácido inoculado. Melhores resultados são obtidos quando água deionizada é utilizada
425 como diluente. Já a solução salina, veículo mais utilizado nos estudos (62% do total),
426 demonstrou apenas 1 resultado positivo. Isso pode estar associado ao fato de que a solução

427 salina apresenta maior concentração de eletrólitos, podendo ser fonte de desequilíbrio osmótico
428 no embrião quando utilizada junto aos nutrientes da solução.

429 De fato, Rufino et al. (2019b), ao inocularem doses de glutamina variando de 2,5 a 12,5
430 mg/ovo diluídas em solução salina observaram redução na eclodibilidade. Já Salmanzadeh et
431 al. (2016), avaliando níveis desse aminoácido variando de 10 a 50 mg/ovo diluída em água
432 deionizada não observaram resultados significativos na eclodibilidade, exceto com a dose de
433 40 mg/ovo, quando houve melhora nesse parâmetro. Importante destacar que outros parâmetros
434 metodológicos podem estar envolvidos, tais como o local e a idade embrionária de inoculação.
435 Enquanto Rufino et al. (2019b) inocularam no 16º dia de inoculação no âmnio, Salmanzadeh et
436 al. (2016) inocularam no 7º dia no albúmen.

437 Subramaniyan et al. (2019), avaliando o efeito de diferentes doses de arginina (0,1, 1,0
438 e 2,5 mg/ovo) diluídas em PBS e inoculadas em diferentes dias de incubação (8, 14 e 18),
439 sugeriram que a dose de 0,1 mg inoculada no estágio embrionário intermediário (14 dias) é a
440 mais indicada, uma vez que aumentou a eclodibilidade e não provocou alterações hepáticas.
441 Estes autores sugerem um efeito tóxico de doses mais altas de arginina e explicam que doses
442 menores são mais facilmente metabolizadas pelo embrião. Entretanto, um estudo anterior de
443 Al-Asadi (2013) contradiz estes achados ao observar aumento de eclodibilidade, peso à eclosão
444 e ganho de peso ao inocular na gema 20 mg de arginina (20 mg), diluída em água destilada no
445 18º dia de incubação. Ambos os estudos citados não mencionaram a osmolaridade das soluções,
446 porém, há a possibilidade de que a toxicidade citada não seja associada à dose, mas sim às
447 características químicas das soluções, formadas com veículos diferentes, associado ao local de
448 inoculação no ovo.

449 O local de inoculação pode afetar a capacidade de eclosão do pintinho (Ohta e Kidd,
450 2001). Muitos autores recomendam a administração no âmnio, uma vez que o embrião ingere
451 oralmente o líquido amniótico até o 18º dia e, assim, o nutriente pode passar diretamente pelo

452 trato gastrointestinal (Uni e Ferket, 2003; Tahmasebi e Toghyani, 2015; Palaniyandi et al.,
453 2018). Seguindo esta recomendação, a maioria dos estudos (62%) realizaram a inoculação no
454 líquido amniótico. Entretanto, a inoculação feita no albúmen demonstrou melhores resultados,
455 com aumento de eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso e redução da conversão
456 alimentar.

457 O albúmen é o principal sítio de fornecimento de água e proteínas para o embrião (Vieira
458 e Moran Jr, 1999). Por volta do 10º e 12º dia de incubação, os movimentos do embrião no
459 interior do saco amniótico faz com que o albúmen seja rompido e se misture ao âmnio (Moran
460 Jr, 2007). Esse autor explica que o conteúdo albúmen-amniótico passa então a ser ingerido
461 oralmente pelo embrião e absorvido diretamente pelo trato gastrointestinal de forma contínua,
462 até que esgote a reserva de fluido e seja iniciada a bicagem interna. Nesse período há
463 principalmente absorção de proteínas que serão utilizadas para produção de energia na fase de
464 eclosão. Visto que o albúmen é majoritariamente composto por água e proteínas, os
465 aminoácidos fornecidos de maneira exógena não prejudicam o seu conteúdo, caso seja a
466 osmolaridade da solução seja adequada. Assim como o âmnio, o albúmen também será ingerido
467 oralmente, e os aminoácidos administrados terão contato direto com a mucosa intestinal,
468 estimulando o desenvolvimento deste órgão desde a fase embrionária, o que explica o aumento
469 do peso à eclosão e melhora do desempenho observado no presente estudo. Além disso, a
470 eclodibilidade é melhorada uma vez que os aminoácidos absorvidos aumentarão o estado
471 energético do embrião, sustentando seu metabolismo aumentado antes da eclosão.

472 Paralelamente ao local de inoculação, a idade embrionária mais adequada para o
473 fornecimento de aminoácidos *in ovo* também é importante. No presente estudo foram
474 observados melhores resultados quando as soluções foram inoculadas entre o 7º e o 14º dia de
475 incubação. Nesse momento, acredita-se que o metabolismo proteico seja mais acentuado
476 quando comparado ao estágio final do desenvolvimento embrionário, quando o embrião se

477 prepara para a eclosão. Mesmo assim, a maioria dos estudos inoculou as soluções entre o 17º e
478 o 18º dia de incubação, período este que ocorre a transferência dos ovos para os nascedouros.
479 Em termos práticos, essa é a melhor idade para a manipulação dos ovos no incubatório.

480 Melhores resultados com a inoculação de soluções contendo aminoácidos foram
481 observados em ovos de galinhas mais velhas (acima de 40 semanas de idade) e ovos mais
482 pesados. Esse resultado pode estar associado ao tamanho do ovo, que possui mais espaço para
483 o desenvolvimento embrionário. Almeida et al. (2006) demonstraram que a idade da matriz
484 afeta diretamente o tamanho do ovo, uma vez que à medida que a galinha envelhece os folículos
485 produzidos são maiores, e que há uma correlação direta entre o peso do ovo e o tamanho do
486 pintinho recém-eclodido. Além disso, Vieira e Moran Jr. (1999) explicam que a idade da matriz
487 afeta a eclodibilidade, sendo que há maior mortalidade de embriões provenientes de galinhas
488 mais jovens. Segundo os autores, pintinhos de matrizes mais velhas tem maiores reservas de
489 energia, uma vez apresentam maior mobilização de lipídeos da gema quando comparados a
490 pintinhos de galinhas jovens.

491 Os resultados apresentados no presente estudo mostram que a inoculação *in ovo* de
492 aminoácidos é benéfica tanto para os incubatórios quanto para os produtores. Embora haja
493 dados suficientes que comprovem esses benefícios, existem estudos que mostram que o uso
494 inadequado de soluções contendo esses nutrientes pode prejudicar o desempenho das aves.
495 Muitos aminoácidos ainda carecem de estudos, o que dificulta qual a melhor dose e qual a
496 melhor combinação desses nutrientes poderia trazer maiores benefícios à cadeia produtiva de
497 frangos de corte.

498

499 **5. Conclusão**

500 A injeção *in ovo* de aminoácidos pode ser utilizada para melhorar parâmetros de eclosão e
501 desempenho pós-eclosão de frangos de corte. A alanina e a carnitina são mais adequados para
502 melhorar características de eclosão; a glutamina para melhorar o desempenho pós-eclosão; e a
503 arginina, creatina e lisina por favorecer ambos. A água deionizada pode ser utilizada como
504 veículo de diluição e o albúmen o local de inoculação recomendado. As soluções devem ser
505 inoculadas entre o 7º e 14º dia de incubação. Melhores resultados são obtidos em ovos de
506 matrizes com idade superior a 40 semanas.

507

508 **Referências**

- 509 Abouzed, T.K., Dorgham, D.A., Kahilo, K.A., Elkattawy, A.M., Nassef, E., El-sawy, H.B.,
510 2019. Impact of l-carnitine supplementation on growth of broiler chicken through
511 determination of changes in the expression of CAT2, MYOD and MYF5 genes. *Slov Vet Res*;
512 56 (Suppl 22): 665–72. <https://doi.org/10.26873/SVR-805-2019>.
- 513 Al-asadi, A.N.O., 2013. Effect of early feeding (in ovo injection) amino acids on hatchability,
514 some productive and physiology traits of broiler. *International Journal for Sciences and*
515 *Technology* Vol. 8, No. 1. <https://doi.org/10.12816/0000224>
- 516 Almeida, J.G., Dahlke, F., Maiorka, A., Faria Filho, D.E., Oelke, C.A., 2006. Effect of broiler
517 breeder age on hatching time, chick permanence time in hatcher and chick weight. *Archives of*
518 *Veterinary Science*, v. 11, n. 1, p. 45-49. <https://doi.org/10.5380/avs.v11i1.6784>
- 519 Atan, H., Kop-Bozbay, C., 2021. Beta alanine effects immediately pre- and post hatch on chick
520 quality, carcass yield and meat quality in broilers. *South African Journal of Animal Science*,
521 51, No. 1. <https://doi.org/10.4314/sajas.v51i1.7>
- 522 Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Agarwal, S.K., Majumdar, S., 2012. Modulation of post hatch-
523 growth and immunocompetence through in ovo injection of limiting amino acids in broiler
524 chickens. *Indian Journal of Animal Sciences* 82 (9): 993–998.
- 525 Bohorquez, D. V., 2010. Nutritional influences on the ultra-structural development of the
526 small intestinal epithelium of the perinatal turkey embryo and poultry. Dissertation (Ph.D. of
527 Philosophy) - North Carolina State University, Raleigh, p. 185.
- 528 Castro, F.L.S., Kim, W.K., 2020. Secondary Functions of Arginine and Sulfur Amino Acids in
529 Poultry Health: Review. *Animals*, 10, 2106. <https://doi.org/10.3390/ani10112106>
- 530 Coskun, I., Akkan, A., Erener, G., 2018. Effects of in ovo injection of lysine and methionine
531 into fertile broiler (parent stock) eggs on hatchability, growth performance, caecum microbiota,

- 532 and ileum histomorphology. R. Bras. Zootec., 47: e20170220.
533 <https://doi.org/10.1590/rbz4720170220>.
- 534 De Meyer, F., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Dhaenens, M., Daled, S., Dedeurwaerder, A., De
535 Gussem, M., Haesebrouck, F., Deforce, D., Van Immerseel, F., 2019. Host intestinal biomarker
536 identification in a gut leakage model in broilers. *Veterinary Research*, 50(1), 14.
537 <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0663-x>.
- 538 Dooley, M., Peebles, E.D., Zhai, W., Mejia, L., Zumwalt C.D., Corzo, A., 2011. Effects of l-
539 carnitine via in ovo injection with or without l-carnitine feed supplementation on broiler
540 hatchability and posthatch performance. *J. Appl. Poult. Res.* 20 :491–497.
541 <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00280>.
- 542 Dos Santos, T.T., Corzo, A., Kidd, M.T., McDaniel, C.D., Torres Filho, R.A., Araújo, L.F.,
543 2010. Influence of in ovo inoculation with various nutrients and egg size on broiler
544 performance. *J. Appl. Poult. Res.* 19 :1–12. <https://doi.org/10.3382/japr.2009-00038>.
- 545 Ebrahimi, M.; Janmohammadi, H.; Daghigh Kia, H.; Moghaddam, G.; Rajabi, Z.; Abbas Rafat,
546 S.; Javanmard, A., 2017. The effect of L-lysine in ovo feeding on body weight characteristics
547 and small intestine morphology in a day-old Ross broiler chicks. *Revue Méd. Vét.*, 168, 4-6,
548 116-124
- 549 Ferket, P, De Oliveira, J., Ghane, A., Uni, Z., 2005. Effect of in ovo feeding solution osmolality
550 on hatching turkeys. *Journal of Poultry Science*, v. 84, p. 118
- 551 Gao, T., Zhao, M., Zhang, L., Li, J., Yu, L. Lv, P., Gao, F., Zhou, G., 2017. Effect of in ovo
552 feeding of l-arginine on the hatchability, growth performance, gastrointestinal hormones, and
553 jejunal digestive and absorptive capacity of posthatch broilers. *J. Anim. Sci.* 2017.95:3079–
554 3092. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0465>.

- 555 Gao, T., Zhao, M., Zhang, L., Li, J., Yu, L., Gao, F., Zhou, G., 2018. In ovo feeding of L-
556 arginine regulates intestinal barrier functions of posthatch broilers by activating the mTOR
557 signaling pathway. *J Sci Food Agric. Mar* ;98(4):1416-1425. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8609>.
- 558 Garcia, D. A.; Gomes, D. E., 2019. A Avicultura Brasileira e Os Avanços Nutricionais. *Revista*
559 *Científica*, 1(1).
- 560 Givisiez, P.E.N., Moreira Filho, A.L.B., Santos, M.R.B., Oliveira, H.B., Ferket, P.R., Oliveira,
561 C.J.B., Malheiros, R.D., 2020. Chicken embryo development: metabolic and morphological
562 basis for in ovo feeding technology. *Poultry Science* 99:6774–6782.
563 <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.074>
- 564 Han, G., Yang, H., Bahry, M.A., Phuong, T.V., Ikeda, H., Furuse, M., Chowdhury, V.S., 2016.
565 L-Leucine acts as a potential agent in reducing body temperature at hatching and affords
566 thermotolerance in broiler chicks. *Comp. Biochem. Physiol., A*.
567 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.10.013>
- 568 Idris, N.R.N., Robertson, C., 2009. The effects of imputing the missing standard deviations on
569 the standard error of meta analysis estimates. *Communications in Statistics—Simulation and*
570 *Computation*® 38, 513-526. <https://doi.org/10.1080/03610910802556106>
- 571 Kadam, M.M., Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Thakur, R., Vasani, P., Bhattacharyya, A., Tyagi,
572 J.S., 2008. Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, immunological
573 responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *British Poultry Science Volume*
574 *49, Number 6* , pp. 736—741. <http://dx.doi.org/10.1080/00071660802469333>
- 575 Karamik, S., Kop-Bozbay, C., 2020. Response of broiler chicks to L-Glutamine feeding in the
576 immediate pre- and post-hatch periods. *South African Journal of Animal Science* 2020, 50 (No.
577 6). <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i6.3>

- 578 Kop-Bozbay, C., Akdağ, A., Atan, H., Ocak, N., 2018. Hatchability, Some Hatchling
579 Parameters, Quality Score, Survivability in Newly Hatched- Broiler Chicks Receiving a β -
580 Alanine Solution In Ovo. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(10): 1469-1473.
581 <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i10.1469-1473.2083>
- 582 Li, Y., Wang, Y. , Willems, E., Willemsen, H., Franssens, L. , Buyse, J., Decuypere, E.,
583 Everaert, N., 2016. In ovo L-arginine supplementation stimulates myoblast differentiation but
584 negatively affects muscle development of broiler chicken after hatching. *Journal of Animal*
585 *Physiology and Animal Nutrition* 100 (2016) 167–177. <https://doi.org/10.1111/jpn.12299>
- 586 Liu HH, Wang JW, Chen X, Zhang RP, Yu HY, Jin HB, Li L, Han CC. 2011. In ovo
587 administration of rhIGF-1 to duck eggs affects the expression of myogenic transcription factors
588 and muscle mass during late embryo development. *J. Appl. Physiol.* 111:1789-1797.
- 589 Lu, J.W., McMurtry, J.P., Coon, C.N., 2007. Developmental changes of plasma insulin,
590 glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick
591 embryos and hatched chicks. *Poult. Sci.* 86, 673-683. <https://doi.org/10.1093/ps/86.4.673>.
- 592 Miri, B., Ghasemi, H.A., Hajkhodadadi, I., Farahani, A.H.K., 2022. Effects of low eggshell
593 temperatures during incubation, in ovo feeding of L-arginine, and post-hatch dietary
594 guanidinoacetic acid on hatching traits, performance, and physiological responses of broilers
595 reared at low ambient temperature. *Poultry Science* 101:101548.
596 <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101548>
- 597 Mohammed, R.J., Al-Hassani, D.H., 2020. The effect of early feeding by in ovo injection and
598 post hatch in hatchery on some hatching traits, liver glycogen and duodenal villi of broiler
599 chickens. *Biochemical and Cellular Archives* 20, 4003-4007.
- 600 Moran Jr., E.T., 2007. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poult. Sci.* 86, 1043-
601 1049. <https://doi.org/10.1093/ps/86.5.1043>

- 602 Nayak, N.; Rajini, R.A.; Ezhilvalavan, S.; Sahu, A.R.; Kirubaharan, J.J., 2017. Comparative
603 effect of arginine and/or tryptophan in ovo feeding on hatchability percentage, growth
604 performance and economic importance of commercial broiler. *Indian Journal of Animal
605 Sciences* 87 (2): 153–158.
- 606 Ohta, Y., Kidd, M.T., 2001. Optimum Site for In Ovo Amino Acid Injection in Broiler Breeder
607 Eggs. *Poultry Science* 80:1425–1429. <https://doi.org/10.1093/ps/80.10.1425>.
- 608 Omid, S., Ebrahimi, M., Janmohammadi, H., Moghaddam, G., Rajabi, Z., Hosseintabar-
609 Ghasemabad, B., 2019. The impact of in ovo injection of l-arginine on hatchability, immune
610 system and caecum microflora of broiler chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2019;00:1–8.
611 <https://doi.org/10.1111/jpn.13222>
- 612 Palaniyandi, K., Mannu, B., Shunmugan, R., Sambandam, R., Harishchandra, S., 2018. Effect
613 of in-ovo injection of glucose, lysine, threonine and β -hydroxy- β -methylburate (HMB) on the
614 morphometry of digestive organs in commercial broilers. *International Journal of Livestock
615 Research* 8, 177-183. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20180215040406>
- 616 Pedroso, A.A., Chaves, L.S., Lopes, K.L.A.M., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J.H.,
617 2006. Nutrient inoculation in eggs from heavy breeders. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 2018-2026.
618 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000700020>
- 619 Retes, P.L., Clemente, A.H.S., Neves, D.G., Espósito, M., Makiyama, L., Alvarenga, R.R.,
620 Pereira, L.J., Zangeronimo, M.G., 2018. In ovo feeding of carbohydrates for broilers - a
621 systematic review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102, 361-369.
622 <https://doi.org/10.1111/jpn.12807>
- 623 Rufino, J.P.F., Cruz, F.G.G., Costa, V.R., Silva, A.F., Oliveira Filho, P.A., Melo, L.D., Bezerra,
624 N.S., 2019a. Effect of in ovo feeding of L-glutamine + ISP to chick embryos. *Medicina
625 Veterinária (UFRPE)*, Recife, v.13, n.4 (out-dez), p.591-596. [https://doi.org/10.26605/medvet-
626 v13n4-3669](https://doi.org/10.26605/medvet-
626 v13n4-3669)

- 627 Rufino, J.P.F., Cruz, F.G.G., Costa, V.R., Silva, A.F., Melo, L.D., Bezerra, N.S., 2019b. Effect
628 of In Ovo Feeding of L-Glutamine to Chick Embryos. *Brazilian Journal of Poultry Science*,
629 v.21, n. 4, 001-008. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2018-0852>
- 630 Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Shahryar, H.A., Ghaleh-Kandi, J.G., 2016. The effects
631 of in ovo feeding of glutamine in broiler breeder eggs on hatchability, development of the
632 gastrointestinal tract, growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Arch.*
633 *Anim. Breed.*, 59, 235–242. <https://doi.org/10.5194/aab-59-235-2016>
- 634 Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Shahryar, H.A., Ghaleh-Kandi, J.G., 2020. The Effects
635 of in ovo Administration of Glutamine on Hatchability, Subsequent Performance,
636 Digestive Enzyme Activities, Immune Response and some of Blood Parameter in Broiler
637 Chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(3), 535-545.
- 638 Santos, C.M.d.C., Pimenta, C.A.d.M., Nobre, M.R.C., 2007. The PICO strategy for the research
639 question construction and evidence search. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 15, 508-
640 511. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>
- 641 Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.-J., St-Pierre, N.R., 2008. Meta-analyses of experimental
642 data in animal nutrition. *Animal* 2, 1203-1214. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002280>
- 643 Shafey, T.M., Al-Batshan, H.A., Al-Owaimer, A.N., Al-Samawei, K.A., 2010. Effects of in ovo
644 administration of L-carnitine on hatchability performance, glycogen status and insulin-like
645 growth factor-1 of broiler chickens. *British Poultry Science* Volume 51, Number 1, pp. 122—
646 131. <http://dx.doi.org/10.1080/00071660903271190>
- 647 Shafey, T.M., Sami, A.S., Abouheif, M.A., 2013. Effects of *in ovo* Feeding of L-Glutamine on
648 Hatchability Performance and Hatching Time of Meat-Type Breeder Eggs. *Journal of Animal*
649 *and Veterinary Advances* 12(1): 135-139. <https://doi.org/10.3923/javaa.2013.135.139>

- 650 Sözcü, A., Ak, İ., 2020. Effects of in-ovo injection of glutamine on late-term embryo
651 development, hatchability, one-day old chick quality and small intestine morphological traits
652 in broilers. *Europ.Poult.Sci.*, 84. ISSN 1612-9199. <https://doi.org/10.1399/eps.2020.293>
- 653 Subramaniyan, S.A., Kang, D.R., Park, J.R., Siddiqui, S.H., Ravichandiran, P., Yoo, D.J., Na,
654 C.S., Shim, K.S., 2019. Effect of In Ovo Injection of L-Arginine in Different Chicken
655 Embryonic Development Stages on Post-Hatchability, Immune Response, and Myo-D and
656 Myogenin Proteins. *Animals*, 9, 357. <https://doi.org/10.3390/ani9060357>
- 657 Tahmasebi, S., Toghyani, M., 2015. Effect of arginine and threonine administered in ovo on
658 digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens. *Journal*
659 *of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Oct;100(5):947-56.
660 <https://doi.org/10.1111/jpn.12400>
- 661 Uni, Z., Ferket, P. R., 2003. Enhancement Of Development Of Oviparous Species By In Ovo
662 Feeding. *US Regular Patent. Research and Development Solutions*, v. 6, n. 592, p. 878.
- 663 Uni, Z., Ferket, P. R., 2004. Methods for early nutrition and their potential. *Journal of Poultry*
664 *Science*, v. 60, p. 101-111. <https://doi.org/10.1079/WPS20038>
- 665 Uni, Z., Ferket, R.P., Tako, E., Kedar, O., 2005. In ovo feeding improves energy status of late-
666 term chicken embryos. *Journal of Poultry Science*, v. 84, p. 764-770.
667 <https://doi.org/10.1093/ps/84.5.764>
- 668 Vieira, S.L., Moran, J.R., 1999. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler
669 live performance and meat yields. *Journal of Poultry Science*, v. 55, p. 125- 142.
670 <https://doi.org/10.1079/WPS19990009>
- 671 Vieira, B.S., Faria Filho, D.E., Torres, K.A.A., Borges, D.M., Rosa, P.S., Furlan, R.L., 2006.
672 *Administração In Ovo De Glutamina E De Lisina Sobre O Desenvolvimento Da Mucosa*

- 673 Intestinal De Frangos Na Primeira Semana Pós-Eclosão. ARS VETERINARIA, Jaboticabal,
674 SP, Vol. 22, nº3, 242-247. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2007000100001>
- 675 Wang, J., Lin, J., Wang, J., Wu, S., Qi, G., Zhang, H., Song, Z., 2020. Effects of in ovo feeding
676 of N-acetyl-L-glutamate on early intestinal development and growth performance in broiler
677 chickens. Poultry Science 99:3583–3593. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.04.003>
- 678 Yu, L.L., Gao, T., Zhao, M.M., Lv, P.A., Zhang, L., Li, J.L., Jiang, Y., Gao, F., Zhou, G.H.,
679 2017. In ovo feeding of L-arginine alters energy metabolism in post-hatch broilers. Poultry
680 Science 0:1–9. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex272>
- 681 Zhang, L., Zhu, X.D., Wang, X.F., Li, J.L., Gao, F., Zhou, G.H., 2016. Individual and combined
682 effects of in-ovo injection of creatine monohydrate and glucose on somatic characteristics,
683 energy status, and posthatch performance of broiler embryos and hatchlings. Poult. Sci. 95,
684 2352-2359. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pew130>
- 685 Zhang, F., Wang, J., Zhang, H., Wu, S., Lin, J., Qi, G., 2020. Effect of Amniotic Injection of
686 N-Carbamylglutamate on Meat Quality of Broilers. Animals, 10, 576.
687 <http://dx.doi.org/10.3390/ani10040576>
- 688 Zhao, M.M.; Gao, T.; Zhang, L.; Li, J.L.; Lv P.A.; Yu, L.L.; Gao, F.; Zhou, G.H., 2017. Effects
689 of in ovo feeding of creatine pyruvate on the hatchability, growth performance and energy status
690 in embryos and broiler chickens. Animal, 11:10, pp 1689–1697.
691 <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731117000374>

692 Tabela 1 – Características dos estudos selecionados.

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Al- Asadi (2013)	LIS; ARG	H, WH e P	90	1.0	DW	YO	18	NI	NI	NI	37,7	60-65	NI
Atan and Kop-Bozbay (2021)	ALA	H; WH e P	240	1.0	SS	AF	17	NI	45.6 ± 3	NI	37,2-37,7	60-75	NI
Bhanja et al. (2012)	LIS; MET; TRE; ARG; GLI; ISO	H e WH	100	0.5	SW	YO	14	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Coskun et al. (2018)	LIS; MET	H e P	48	0.2	SS	AS	16	60	NI	R	37,8	60	NI
Dooley et al. (2011)	CAR	H e P	160	0.1	NI	AF	18	NI	NI	R	37,5	NI	NI
Ebrahimi et al. (2017)	LIS	H e WH	30	1.0	DW	AF	14	45	NI	R	37,8	60	NI
Gao et al. (2017)	ARG	H, WH e P	240	0.6	SS	AF	17.5	34	62.2	AA	37,8	60	NI
Gao et al. (2018)	ARG	H, WH e P	320	0.6	SS	AF	17.5	34	70.2	AA	37,8	60	NI
Han et al. (2016)	LEU; ISO; VAL	H e WH	10	0.5	SW	YO	7	NI	NI	NI	37,6	60	NI
Kadam et al. (2008)	TRE	H e WH	60	0.5	SW	YO	14	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Karamik and Kop-Bozbay (2020)	GLU	H e P	240	1.0	SS	AF	18	NI	46.7 ± 1	R	37,2-37,7	60-75	NI
Kop-Bozbay et al. (2018)	ALA	H e WH	30	1.0	SS	AF	18	32	NI	R	37,2-37,7	60-75	NI
Li et al. (2016)	ARG	WH e P	120	0.5	SS	AF	16	40	NI	R	37,8	60	NI
Miri et al. (2022)	ARG	H e WH	360	0.6	SS	AF	17,5	40	63.8 ± 0.18	R	NI	NI	NI
Mohammed and Al-Hassani (2020)	ARG	H e WH	150	0.5	DW	AC	18	NI	NI	R	NI	NI	NI
Nayak et al. (2017)	ARG; TRIP	H, WH e P	140	0.5	SS	AF	18	34	NI	C	NI	NI	NI
Omidi et al. (2019)	ARG	H	100	1.0	SW	AF	14	27	NI	NI	37,4	NI	NI
Palaniyandi et al. (2018)	LIS; TRE	H, WH e P	90	0.5	SS	AF	18	NI	NI	NI	37,5	60	NI
Pedroso et al. (2006)	GLU	H e WH	130	0,2	SS	AS	16	35	NI	C	37,5	65	NI
Rufino et al. (2019a)	GLU	H e WH	60	0.5	SS	AF	16	42	NI	RI	37,6	66	NI
Rufino et al. (2019b)	GLU	H e WH	45	0.5	SS	AF	16	32	NI	RI	37,6	66	239.37, 307.80, 376.23, 444.66, 513.10
Salmanzadeh et al. (2016)	GLU	H, WH e P	200	0.5	DZW	AL	7	42	65 ± 1	C	37,7	64	450
Salmanzadeh et al. (2020)	GLU	H, WH e P	300	0.5	DZW	AL	14	43	66 ± 1	C	37,8	65	472

Santos et al. (2010)	GLU	H, WH e P	1600	0.5	SS	AF	18	30	NI	C	NI	NI	NI
Shafey et al. (2010)	CAR	H e WH	48	0.5	SS	YO	17.5	27	NI	R	37,5	55	NI
Shafey et al. (2013)	GLU	H e WH	135	0.5	SS	AF	17	26	NI	R	37,5	55	NI
Sözcü and Ak (2020)	GLU	H e WH	210	0.5	DW	AS	17	36	60-65	R	37,2	55	NI
Subramaniyan et al. (2019)	ARG	H e WH	80	0.1	PBS	NI	8, 14 e 18	NI	60 ± 1.36	R	37,8	60	NI
Tahmasebi and Toghyani (2015)	ARG; TRE	H e P	80	0.5	SS	AF	14	NI	71.0 ± 0.4	R	37,5	65	NI
Vieira et al. (2006)	GLU; LIS	WH	75	0.15	DW	AC	11	49	56.8 ± 3.44	C	37,4	60	NI
Wang et al. (2020)	GLU	H e WH	234	0.3	SS	AF	17.5	35	59.28 ± 0.07	R	37,8	60	NI
Zhang et al. (2016)	CRE	H e WH	110	0.4	SS	AF	17.5	38- 40	58 - 62	AA	37,6	60	NI
Zhang et al. (2020)	GLU	H e P	264	0.1	SS	AF	17.5	NI	58 - 62	R	37,8	60	NI
Zhao et al. (2017)	CRE	H, WH e P	240	0.6	SS	AF	17.5	34	62.17 ± 1.63	AA	37,8	60	NI

693 **1)** Aminoácido (LIS – lisina; ARG – arginina; MET – metionina; TRE – treonina; GLI – glicina; ISO – isoleucina; CAR – carnitina; GLU – glutamina; LEU –
694 leucina; VAL – valina; ALA – alanina; TRIP – triptofano; CRE – creatina) **2)** Variáveis (H- Eclodibilidade; HW- Peso à eclosão; P-performance); **3)** Total de
695 ovos por tratamento. **4)** Volume inoculado por ovo (ml); **5)** Veículo (SS- solução salina; SW: água estéril; DW- água destilada; DZW- água deionizada; PBS-
696 phosphate buffered saline); **6)** Local de inoculação (AL- albúmen; AF- fluido amniótico; AC- cavidade alantóide; AS- saco de ar; YO- gema); **7)** Idade
697 embrionária de inoculação (dias); **8)** Idade da galinha (semanas); **9)** Peso do ovo (gramas); **10)** Linhagem (C-Cobb; R-Ross; AA-Arbor Acres; RO-Roman, RI
698 - Rhode Island Red, O - Outros); **11)** Temperatura de incubação; **12)** Umidade durante a incubação; **13)** Osmolaridade da solução (mOsm). NI-Não informado.

699 Tabela 2. Escore de pontuação dos artigos com base nos critérios de avaliação da qualidade de
700 evidência

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Total
Al- Asadi (2013)	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	17
Atan and Kop-Bozbay (2021)	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	19
Bhanja et al. (2012)	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	16
Coskun et al. (2018)	1	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	18
Dooley et al. (2011)	2	2	2	1	2	2	1	1	2	1	1	17
Ebrahimi et al. (2017)	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	19
Gao et al. (2017)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21
Gao et al. (2018)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21
Han et al. (2016)	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	17
Kadam et al. (2008)	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	15
Karamik and Kop-Bozbay (2020)	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	20
Kop-Bozbay et al. (2018)	1	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	18
Li et al. (2016)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	20
Miri et al. (2022)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	20
Mohammed and Al-Hassani (2020)	2	1	2	2	2	2	1	1	2	1	1	17
Nayak et al. (2017)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	19
Omidi et al. (2019)	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	18
Palaniyandi et al. (2018)	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	17
Pedroso et al. (2006)	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	19
Rufino et al. (2019a)	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	19
Rufino et al. (2019b)	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	19
Salmanzadeh et al. (2016)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	22
Salmanzadeh et al. (2020)	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	21
Santos et al. (2010)	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	19
Shafey et al. (2010)	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	19
Shafey et al. (2013)	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	19
Sözcü and Ak (2020)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21
Subramaniyan et al. (2019)	1	2	2	2	1	2	1	2	2	2	1	18
Tahmasebi and Toghyani (2016)	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	19
Vieira et al. (2006)	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	20
Wang et al. (2020)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21
Zhang et al. (2016)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21
Zhang et al. (2020)	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	20
Zhao et al. (2017)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	21

- 701 1. Tamanho da amostra: mais de 100 ovos por tratamento (2) menos de 100 ovos (1).
702 2. Randomização: estudos que demonstraram randomização (2) não (1).
703 3. Volume inoculado: volume relatado (2) e se não relatado (1).
704 4. Veículo de diluição: veículo de diluição relatado (2) e caso não seja relatado (1).
705 5. Local de inoculação: local de inoculação relatado (2) e caso não seja relatado (1).
706 6. Idade do embrião: idade do embrião no momento da aplicação relatada (2) e se não relatada (1)
707 7. Idade da matriz: idade da matriz informada (2) e não informada (1).
708 8. Peso do ovo: peso do ovo no início da incubação relatado (2) e se não relatado (1)
709 9. Linhagem: linhagem descrita (2) se não descrita (1)
710 10. Condições de incubação: temperatura e/ou umidade durante a incubação (2); não relatada (1)
711 11. Osmolaridade da solução: osmolalidade apresentada (2); não apresentada (1).

712 Tabela 3. Principais resultados dos estudos avaliados

Referência	Aminoácido (quantidade inoculada em mg/ovo)	H	HW	BWG			FC		
				21	35	42	21	35	42
Al- Asadi (2013)	Lisina (20,0)	+	+	+	+	+	NE	NE	NE
	Arginina (20,0)	+	+	+	+	+	NE	NE	NE
Atan and Kop-Bozbay (2021)	Alanina (10,0)	NS	NE	NS	NE	NS	NS	NE	NS
Bhanja et al. (2012)	Lisina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Metionina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Treonina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glicina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Coskun et al. (2018)	Isoleucina (25,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (2,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
Dooley et al. (2011)	Metionina (2,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
	Carnitina (8,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
Dooley et al. (2011)	Carnitina (16,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
	Carnitina (32,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
	Carnitina (32,0)	NS	NE	NS	NE	NE	NS	NE	NE
Ebrahimi et al. (2017)	Lisina (10,0)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (20,0)	+	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (30,0)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (40,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (50,0)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Gao et al. (2017)	Arginina (3,0)	NS	NS	+	NE	NE	NS	NE	NE
	Arginina (6,0)	NS	NS	+	NE	NE	NS	NE	NE
	Arginina (12,0)	-	NS	+	NE	NE	NS	NE	NE
Gao et al. (2018)	Arginina (6,0)	NS	NS	+	NE	+	NS	NE	NS
Han et al. (2016)	Leucina (4,6)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Isoleucina (2,8)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Valina (3,4)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Kadam et al. (2008)	Treonina (10,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Treonina (20,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Treonina (30,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Treonina (40,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Karamik e Kop-Bozbay (2020)	Glutamina (10,0)	NS	NE	NE	NE	NS	NE	NE	NS
Kop-Bozbay et al. (2018)	Alanina (0,8)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Alanina (1,5)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Li et al. (2016)	Arginina (6,2)	NE	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (1,5)	NE	NS	-	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginine (0,4)	NE	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE
Miri et al. (2022)	Arginina (6,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Mohammed e Al-Hassani (2020)	Arginina (3,5)	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Nayak et al. (2017)	Arginina (2,5)	NS	NS	+	NS	NE	NE	NE	NE
	Triptofano (2,5)	NS	NS	NS	NS	NE	NE	NE	NE
Omidi et al. (2019)	Arginina (5,0)	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (10,0)	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Palaniyandi et al. (2018)	Lisina (2,5)	+	NS	NE	NE	NS	NE	NE	NS

	Treonina (2,5)	+	NS	NE	NE	NS	NE	NE	-
Pedroso et al. (2006)	Glutamina (10,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Rufino et al. (2019a)	Glutamina (5,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Rufino et al. (2019b)	Glutamina (2,5)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (5,0)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (7,5)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (10,0)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (12,5)	-	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Salmanzadeh et al. (2016)	Glutamina (10,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (20,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (30,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (40,0)	+	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (50,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
Salmanzadeh et al. (2020)	Glutamina (10,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (20,0)	NS	NS	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (30,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (40,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
	Glutamina (50,0)	NS	+	NE	NE	+	NE	NE	-
Santos et al. (2010)	Glutamina (50,0)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Shafey et al. (2010)	Carnitina (0,025)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,05)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,1)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,2)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,3)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,4)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Carnitina (0,5)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Shafey et al. (2013)	Glutamina (50,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (100,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (150,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Sözcü and Ak (2020)	Glutamina (20,0)	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (40,0)	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (60,0)	NS	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Glutamina (80,0)	NS	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Subramaniyan et al. (2019)	Arginina (0,1 no D8 de incubação)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (0,1 no D14 de incubação)	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (0,1 no D18 de incubação)	NS	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (1,0 no D8 de incubação)	-	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (1,0 no D14 de incubação)	NS	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (1,0 no D18 de incubação)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (2,5 no D8 de incubação)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (2,5 no D14 de incubação)	NS	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Arginina (2,5 no D18 de incubação)	+	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Tahmasebi e Toghyani (2015)	Arginina (35,0)	NS	NE	NE	NE	+	NE	NE	NS

	Treonina (25,0)	NS	NE	NE	NE	+	NE	NE	NS
Vieira et al. (2006)	Glutamina (1,5)	NE	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	Lisina (1,5)	NE	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Wang et al. (2020)	Glutamina (1,5)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Zhang et al. (2016)	Creatina (6,0)	NS	NS	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Zhang et al. (2020)	Glutamina (2,0)	NS	NE	NE	NE	NS	NE	NE	NS
Zhao et al. (2017)	Creatina (3,0)	NS	NS	NS	NE	NE	NS	NE	NE
	Creatina (6,0)	NS	NS	+	NE	NE	NS	NE	NE
	Creatina (12,0)	NS	+	+	NE	NE	NS	NE	NE

713 H- Eclodibilidade; HW- Peso à eclosão; BWG- ganho de peso; FC – taxa de conversão alimentar. 21,
714 35 e 42 – idade de avaliação (dias). NS – não significativo; NE – não avaliado; (-): reduzido; (+):
715 aumentado.
716

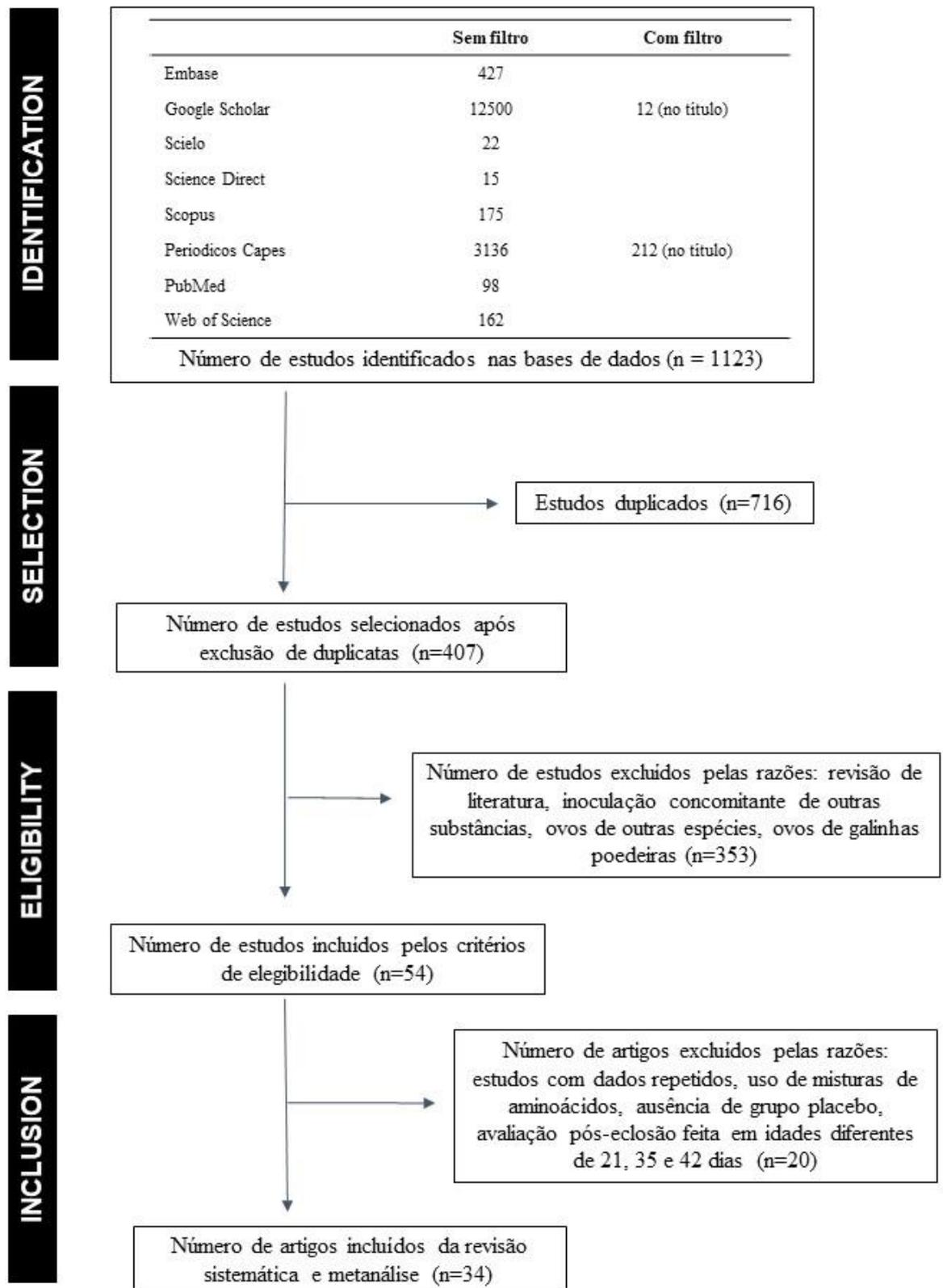
717 Tabela 4. Síntese dos principais resultados (e número de estudos) da metanálise, considerando o tipo de aminoácido e a metodologia utilizada.

	Eclodibilidade	Peso à eclosão	Ganho de peso	Conversão alimentar
<i>Aminoácido</i>				
Alanina	+ (3 comparações)	+ (3 comparações)	NS (1 comparação)	NS (1 comparação)
Arginina	NS (21 comparações)	+ (21 comparações)	NS (10 comparações)	- (5 comparações)
Carnitina	NS (10 comparações)	+ (7 comparações)	NS (3 comparações)	NS (3 comparações)
Creatina	NS (4 comparações)	+ (4 comparações)	+ (3 comparações)	NS (3 comparações)
Glutamina	NS (30 comparações)	NS (29 comparações)	+ (13 comparações)	- (13 comparações)
Glicina	NS (1 comparação)	- (1 comparação)	NA	NA
Isoleucina	NS (2 comparações)	- (2 comparações)	NA	NA
Leucina	NS (1 comparação)	NS (1 comparação)	NA	NA
Lisina	NS (9 comparações)	+ (9 comparações)	+ (3 comparações)	NS (2 comparações)
Metionina	NS (2 comparações)	+ (1 comparação)	+ (1 comparação)	NS (1 comparação)
Treonina	NS (7 comparações)	NS (6 comparações)	NS (2 comparações)	- (2 comparações)
Triptofano	NS (1 comparação)	NS (1 comparação)	NS (1 comparação)	NA
Valina	NS (1 comparação)	NS (1 comparação)	NA	NA
<i>Local de inoculação</i>				
Câmara de ar	NS (6 comparações)	NS (4 comparações)	+ (2 comparações)	+ (2 comparações)
Albúmen	+ (10 comparações)	+ (10 comparações)	+ (10 comparações)	- (10 comparações)
Saco alantóico	+ (1 comparação)	+ (3 comparações)	NA	NA
Âmnion	NS (41 comparações)	+ (38 comparações)	NS (20 comparações)	- (15 comparações)
Saco vitelínico	NS (22 comparações)	NS (22 comparações)	+ (2 comparações)	NA
<i>Veículo de inoculação</i>				
Água deionizada	+ (10 comparações)	+ (10 comparações)	+ (10 comparações)	- (10 comparações)
Água destilada	+ (12 comparações)	+ (14 comparações)	+ (2 comparações)	NA
PBS	NS (9 comparações)	+ (9 comparações)	NA	NA
Solução salina	NS (43 comparações)	+ (40 comparações)	NS (22 comparações)	NS (17 comparações)
Água estéril	NS (15 comparações)	NS (13 comparações)	NA	NA
<i>Idade de inoculação</i>				
7 a 14 dias	+ (41 comparações)	+ (39 comparações)	+ (12 comparações)	- (12 comparações)

15 a 18 dias	NS (51 comparações)	+ (47 comparações)	NS (25 comparações)	NS (18 comparações)
<i>Linhagem</i>				
Arbor Acres	NS (8 comparações)	+ (8 comparações)	NS (7 comparações)	NS (7 comparações)
Cobb	+ (16 comparações)	NS (18 comparações)	+ (13 comparações)	- (11 comparações)
Rode Island Red	- (6 comparações)	NS (6 comparações)	NA	NA
Ross	NS (42 comparações)	+ (36 comparações)	NS (12 comparações)	NS (9 comparações)
<i>Idade das matrizes</i>				
Entre 26 e 40 semanas	NS (39 comparações)	+ (40 comparações)	NS (13 comparações)	- (11 comparações)
Entre 41 e 60 semanas	+ (18 comparações)	+ (18 comparações)	+ (12 comparações)	- (17 comparações)
<i>Peso dos ovos</i>				
Entre 46 e 47 gramas	NS (2 comparações)	+ (1 comparação)	NS (2 comparações)	NS (2 comparações)
Entre 57 e 66 gramas	+ (33 comparações)	+ (34 comparações)	+ (17 comparações)	- (17 comparações)
Entre 70 e 72 gramas	NS (3 comparações)	+ (1 comparação)	+ (3 comparações)	- (3 comparações)

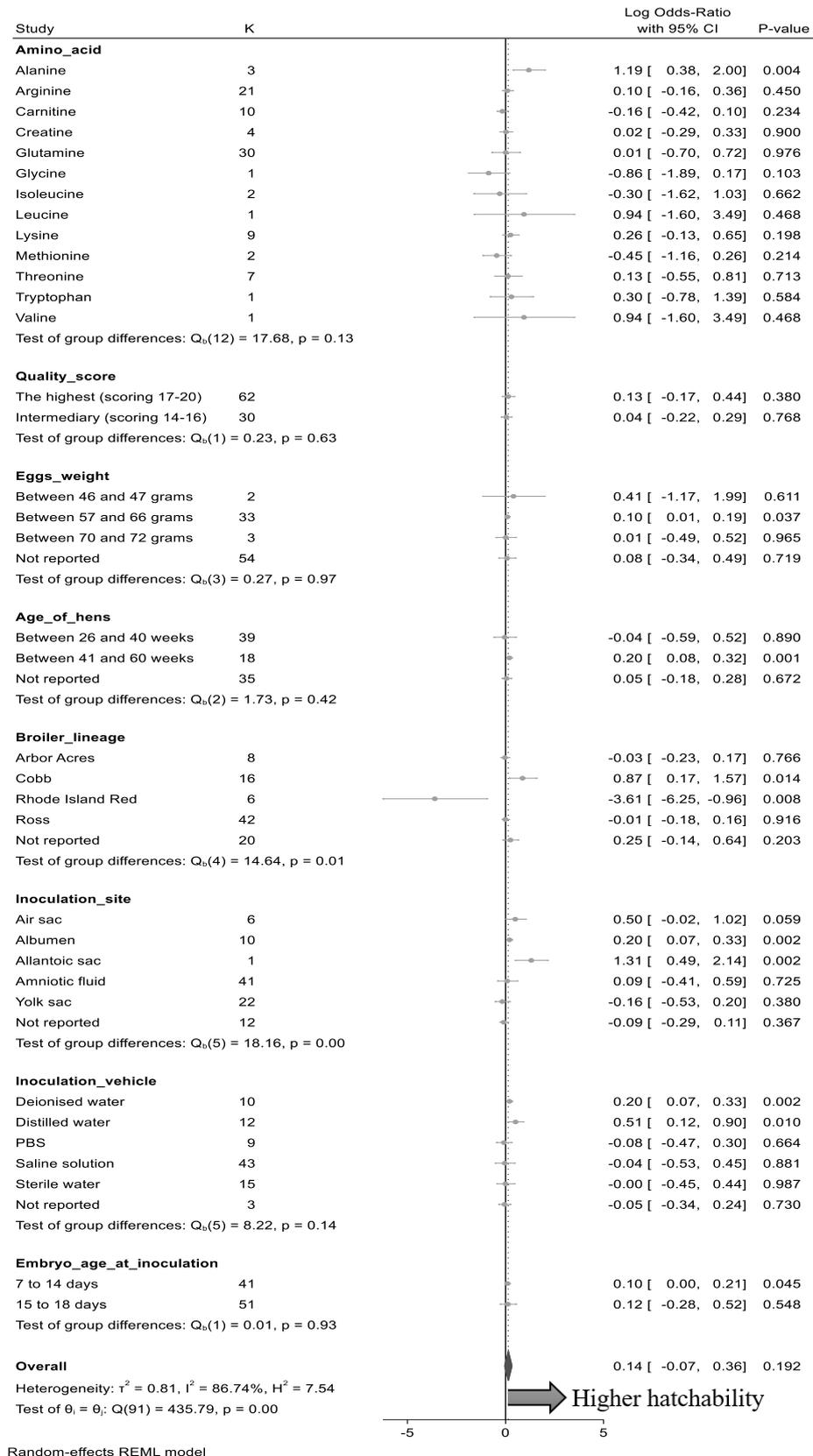
718 NS – não significativo; NA – não avaliado; (+): aumentado; (-): diminuído

719



720

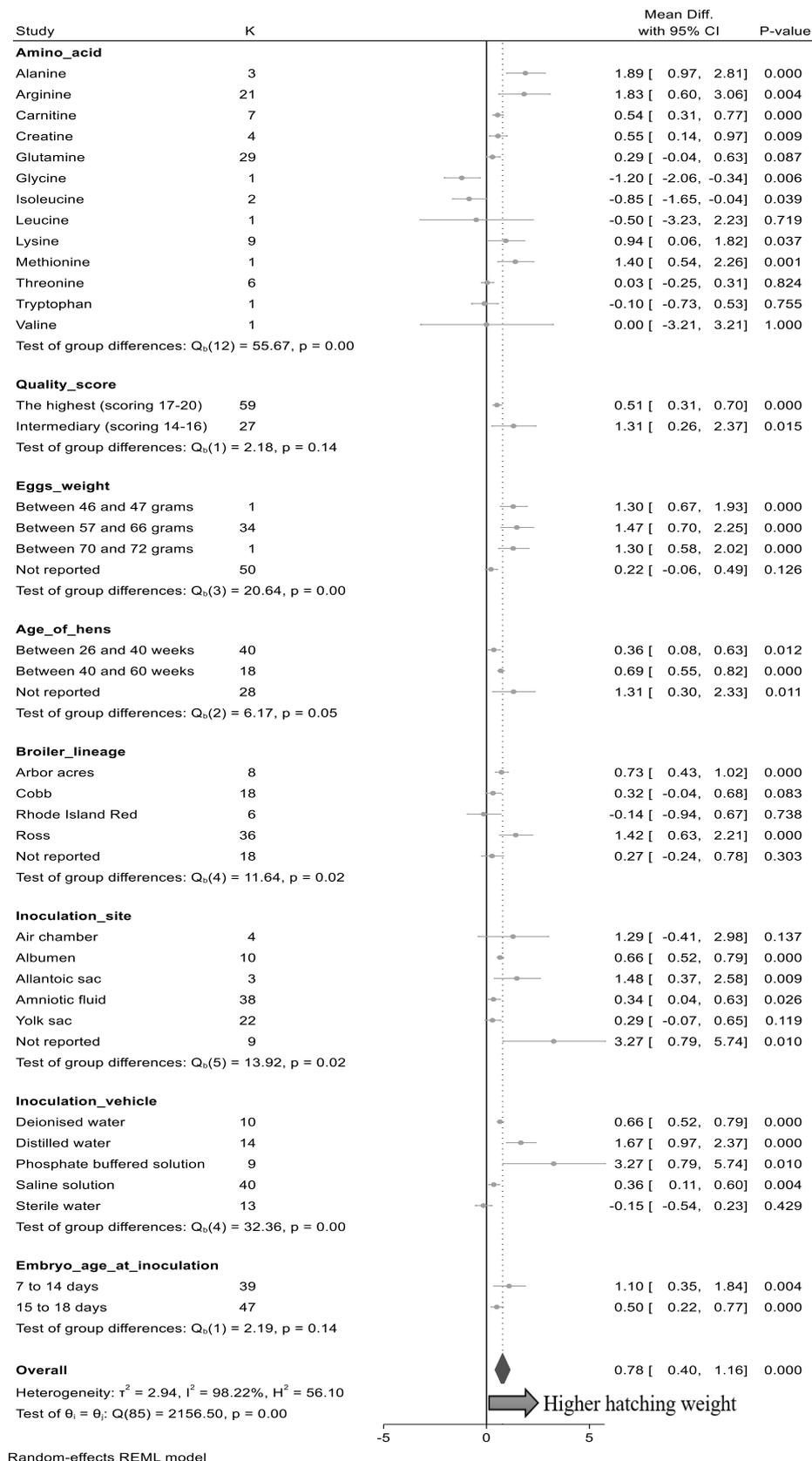
721 Figura 1 - Fluxograma da busca e seleção dos artigos a partir da seguinte combinação de palavras:
 722 (*aminoacid* OR *aminoacids*) AND (“*in ovo*”). Nenhum outro artigo foi adicionado durante a redação
 723 desta revisão.



724

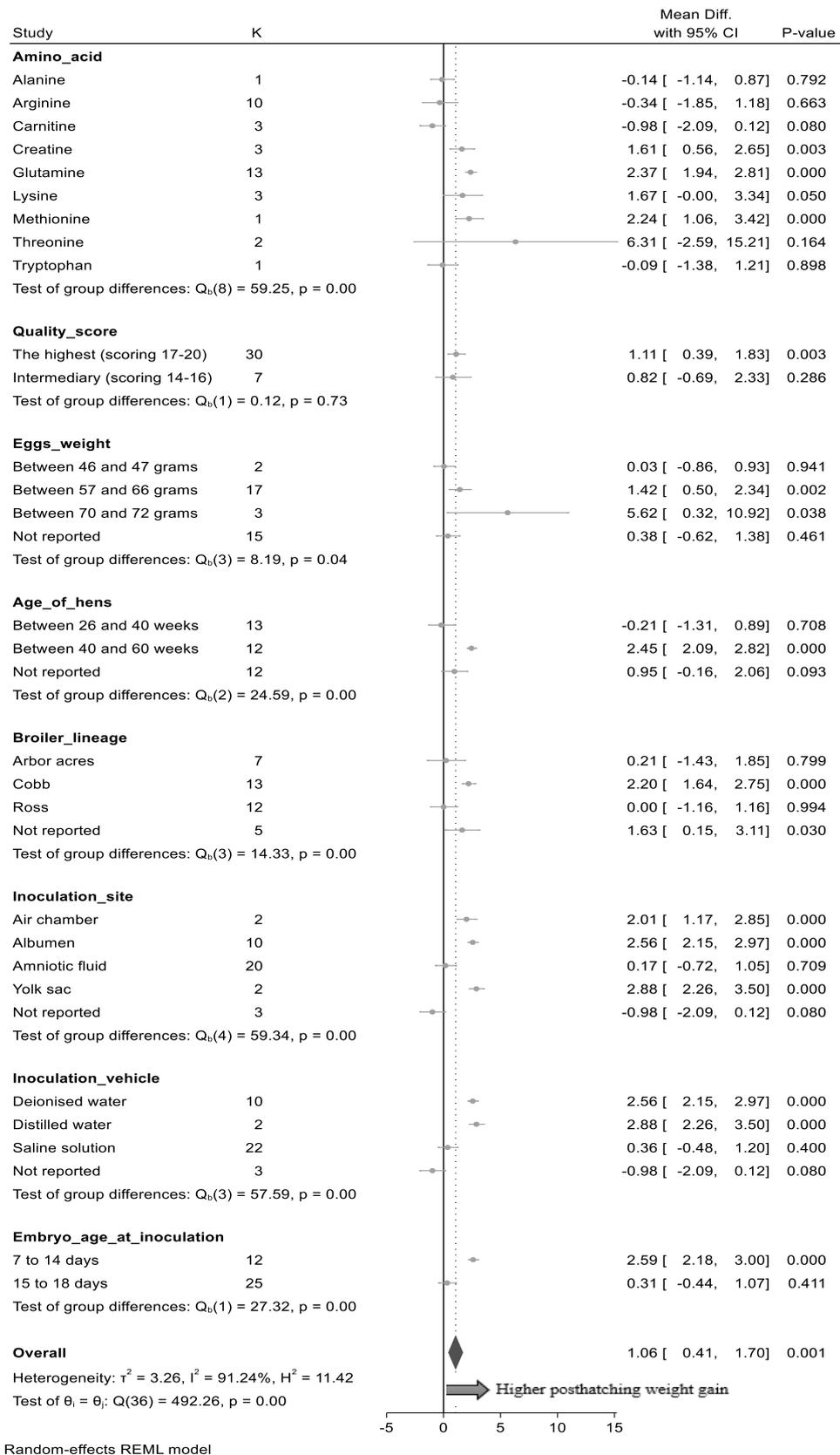
Random-effects REML model

725 Figura 2. Resumo da variação (Δ) na eclodibilidade (%) de ovos inoculados com aminoácidos em relação
726 ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos:
727 aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem, local
728 de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.



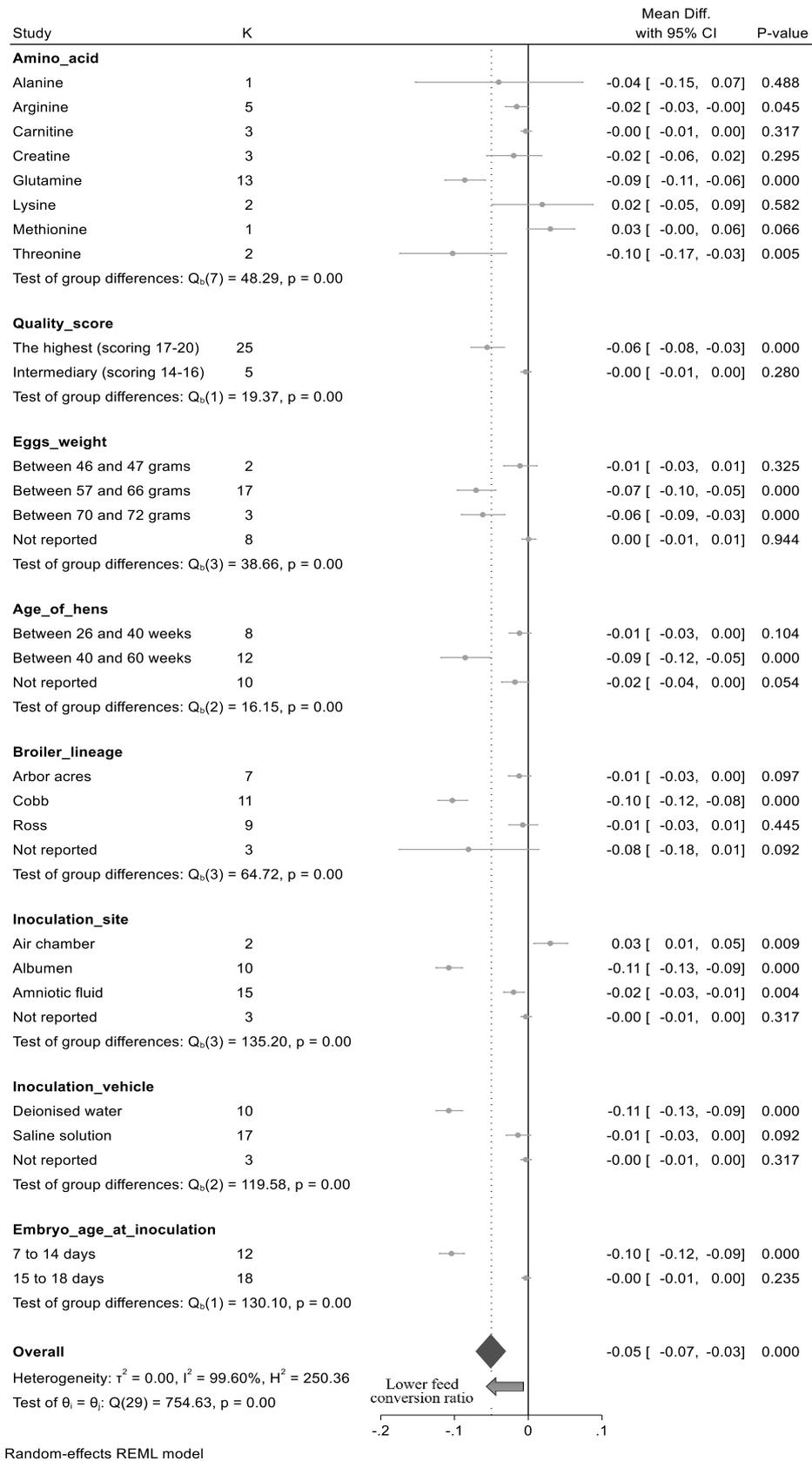
729

730 Figura 3 - Resumo da variação (Δ) no peso à eclosão (g) de ovos inoculados com aminoácidos em
731 relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando os seguintes subgrupos:
732 aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das galinhas, linhagem,
733 local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.



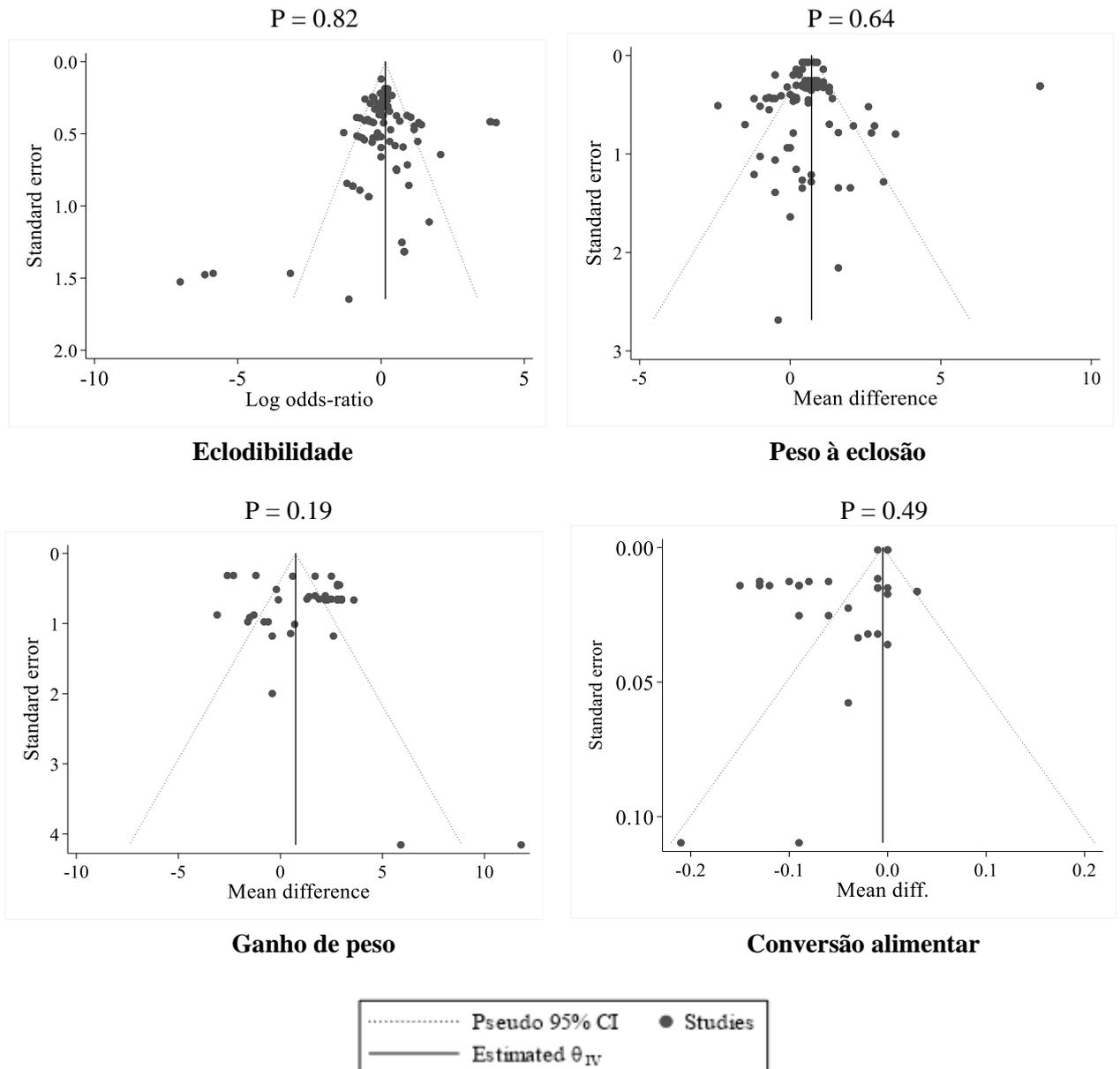
734

735 Figura 4 - Resumo da variação (Δ) no ganho de peso pós-eclosão (g/dia) de frangos de corte de ovos
736 inoculados com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo),
737 considerando os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos
738 ovos, idade das galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.



739

740 Figura 5 - Resumo da variação (Δ) na conversão alimentar (g/g) de frangos de corte de ovos inoculados
 741 com aminoácidos em relação ao respectivo tratamento controle (inoculação do veículo), considerando
 742 os seguintes subgrupos: aminoácido inoculado, escore de qualidade do estudo, peso dos ovos, idade das
 743 galinhas, linhagem, local de inoculação, veículo e idade embrionária na inoculação.



744 Figura 6. Gráfico *Funnel Plot* com intervalo de confiança de 95% obtido com o modelo linear de efeito
 745 aleatório para eclodibilidade, peso à eclosão, ganho de peso e conversão alimentar. Os valores de P
 746 foram obtidos pelo teste de Begg (eclodibilidade) ou teste de Egger.

747

748