

# NUTRItime

REVISTA ELETRÔNICA

[www.nutritime.com.br](http://www.nutritime.com.br)

ISSN-1983-9006

Revista Eletrônica Nutritime, Artigo 119  
v. 7, n° 04 p.1304-1313, Julho/Agosto 2010



## **Artigo Número 119**

# **NUTRIÇÃO *IN OVO* DE FRANGOS DE CORTE**

**Anastácia Maria de Araujo Campos<sup>1</sup>, Paulo César Gomes<sup>2</sup>, Horacio Santiago Rostagno<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda do Departamento de Zootecnia da UFV. Viçosa, MG: [anastaciacampos@yahoo.com.br](mailto:anastaciacampos@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Professores do Departamento de Zootecnia da UFV. Viçosa, MG: [pcgomes@ufv.br](mailto:pcgomes@ufv.br); [rostagno@ufv.br](mailto:rostagno@ufv.br)



## INTRODUÇÃO

Devido ao constante progresso genético que vem ocorrendo nas linhagens avícolas destinadas à produção de carne, o tempo de abate do frango de corte reduziu consideravelmente, e com isso o período de incubação se torna cada vez mais importante, representando cerca de 30% do período de vida do animal.

Após a fecundação o embrião terá sucesso em seu desenvolvimento se todos nutrientes alocados pela mãe estiverem disponíveis. Quantidades insuficientes de nutrientes levam ao insucesso da incubação devido às limitações no crescimento embrionário.

O ovo é uma estrutura suficientemente completa para permitir o desenvolvimento de um novo ser vivo. Entretanto, a concentração de carboidratos é extremamente baixa, com menos de 1% do total, sendo que apenas 0,3% deste total é glicose livre. Dessa forma, a gliconeogênese de origem protéica é indispensável para atender a demanda de glicose nos últimos dias de incubação, o que resulta na degradação de proteína muscular, e na limitação de energia disponível para o desenvolvimento do sistema imune. Além disso, após a eclosão as aves apresentam funções digestivas limitadas, o que diminui a disponibilidade de nutrientes para seu crescimento e as torna susceptíveis à colonização por patógenos.

A nutrição *in ovo* consiste no fornecimento de nutrientes para o pinto durante o seu desenvolvimento embrionário, com a finalidade de aumentar o estado nutricional do embrião, além de permitir a introdução de nutrientes específicos em contato com as células do intestino, antes mesmo da eclosão, melhorando, assim, a capacidade de digerir alimentos pelo neonato. Como essa

técnica é recente, pouco se sabe acerca das quantidades e dos tipos de nutrientes que podem ser utilizados na nutrição do embrião. Muitas vezes, os níveis e a composição dos nutrientes inoculados *in ovo* são omitidos (UNI et al., 2004).

O objetivo deste trabalho é fazer um breve relato sobre a técnica de nutrição *in ovo* bem como seus efeitos sobre o desempenho de frangos de corte.

## A NUTRIÇÃO *IN OVO*

Em aves, paralelamente ao desenvolvimento dos tecidos embrionários, desenvolvem-se as membranas celulares extra-embrionárias, ou anexos embrionários. Estes são o saco vitelínico, o âmnio, o alantóide e o cório (Figura 1).

Dentro do âmnio se encontra o líquido amniótico, que é o fluido que envolve o embrião mantendo-o em um ambiente líquido, protegendo-o, desta forma, contra dessecação, choques mecânicos e térmicos.

Do 15º ao 19º dia de incubação o líquido amniótico é totalmente consumido oralmente e, conseqüentemente, as substâncias presentes também são ingeridas, criando a possibilidade de ingestão de nutrientes exógenos antes do nascimento. Portanto, a inoculação *in ovo* na cavidade amniótica (Figura 2), permite a ingestão de nutrientes oralmente antes mesmo da eclosão.

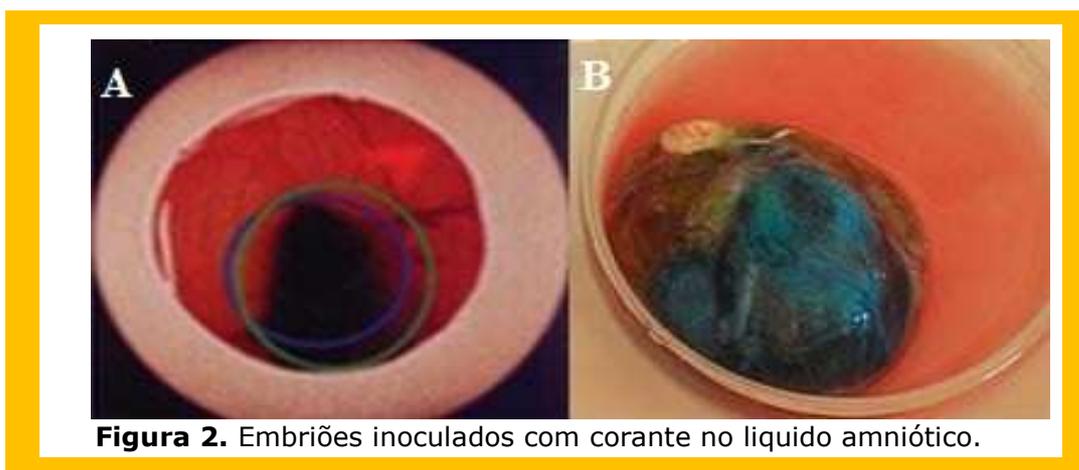
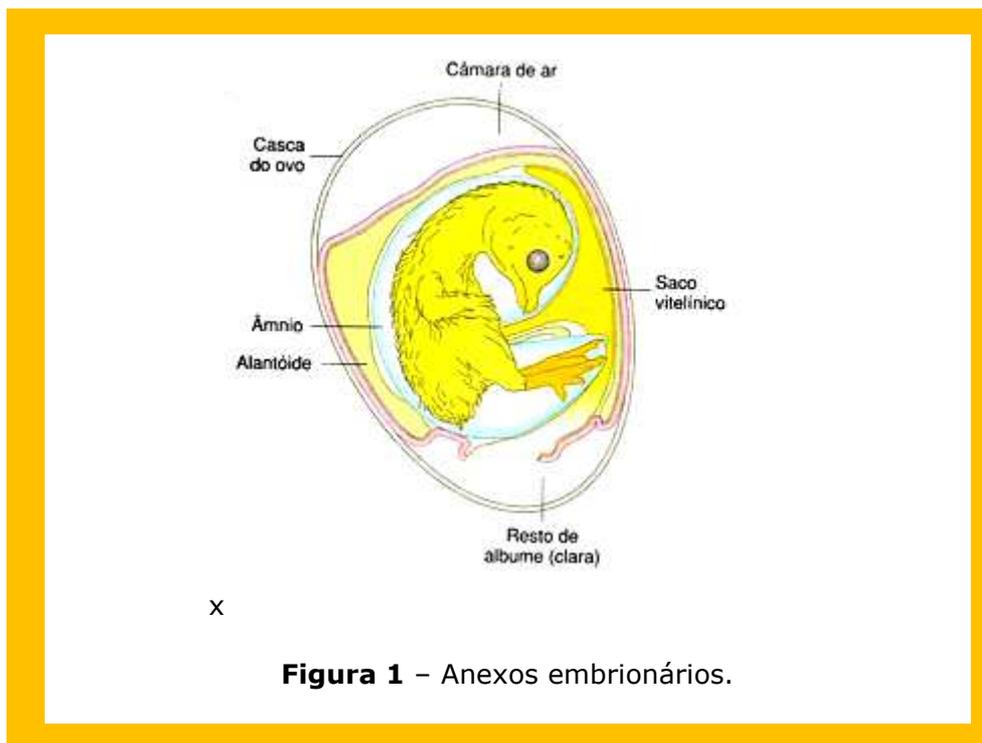
O desenvolvimento do sistema gastrointestinal acontece ao longo de toda incubação, porém suas habilidades funcionais só começam a desenvolver a partir do 15º dia de incubação, quando o embrião inicia a ingestão oral do líquido amniótico. O maior desenvolvimento do intestino ocorre a partir do 17º dia de incubação, sendo que o peso do intestino em proporção ao peso embrionário aumenta de



aproximadamente 1% aos 17 dias para 3.5% á eclosão. Além disso, tem-se demonstrado que o embrião possui enzimas digestivas (Sklan et al., 2003) a partir do 16º dia que tornam possível a nutrição na fase pré-eclosão.

Embora o consumo do líquido amniótico comece no 15º dia de

incubação, a inoculação de nutrientes *in ovo* deve ser realizado por volta do 17º, 18º ou 19º dia de incubação, quando o embrião apresenta maior desenvolvimento intestinal. De forma geral, não há definição ainda da melhor idade para este manejo.



Segundo a literatura e experimentos desenvolvidos na Universidade Federal de Viçosa, vários nutrientes podem ser usados na nutrição *in ovo*. A utilização dos nutrientes pode ser de forma simples

ou conjunta e o efeito depende dos níveis dos nutrientes utilizados. O uso de solução de vários nutrientes pode ser benéfico, pois permite ao embrião a utilização de diferentes nutrientes de forma generalizada. No entanto, isto é



válido quando se conhece a relação entre os nutrientes e a forma em que eles irão agir sobre o desenvolvimento embrionário nas diferentes fases.

Os nutrientes utilizados podem estar envolvidos com diferentes funções: fontes de energia (sacarose, dextrina, maltose e glicose), ativação do sistema imunológico (vitamina E, cobre e probióticos), metabolismo e anabolismo protéico (HMB e Aminoácidos: metionina, lisina, treonina, arginina e leucina) e/ou agentes tróficos da mucosa intestinal (glutamina, zinco e ácido butírico).

Os carboidratos estão sendo amplamente testados na nutrição embrionária, por serem componentes importantes do ovo e de grande importância para a fase final do desenvolvimento embrionário (UNI et al., 2005). Esses são utilizados como fonte para produção de glicose, que é crucial para o desenvolvimento embrionário (MORAN, 1985), além de elevar as atividades das enzimas produzidas no intestino aumentando a capacidade de digestão e absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho do animal. Entre os carboidratos mais utilizados estão à glicose, sacarose, maltose e dextrina.

Outros nutrientes utilizados na nutrição *in ovo* são as vitaminas devido às suas importâncias no desenvolvimento embrionário. A deficiência de vitaminas durante a incubação pode causar anormalidades como bicos pequeno ou alto, protrusões desorganizadas no cérebro, vísceras expostas, membros encurtados e torcidos, corpo curto e degeneração. As vitaminas A, D, E, K, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, biotina, riboflavina, ácido pantotênico, niacina, ácido fólico e tiamina podem ser utilizadas em soluções separadas ou juntas na nutrição *in ovo*, sendo a vitamina E a mais utilizada nos experimentos, por estar relacionada a sistemas de anti-oxidação no embrião, à eficiência

reprodutiva, e também à resposta imune nas aves.

Pesquisas de inoculação de aminoácidos em ovos são escassas, entretanto os aminoácidos podem ser administrados tanto sozinhos como conjuntamente em soluções. Os aminoácidos utilizados são a glutamina ou a  $\beta$  hidroxí metil butirato (HMB-metabólico da leucina), podendo ainda ser utilizada a arginina. O objetivo principal de se fornecer aminoácidos seria o papel importante desses no metabolismo da proteína no músculo e sua relação positiva com a síntese protéica e com o hormônio do crescimento (glutamina).

As deficiências de minerais específicos podem ser rapidamente induzidas em embriões em desenvolvimento quando as reprodutoras recebem quantidades insuficientes destes, levando a reduzido crescimento, desenvolvimento anormal de todos os órgãos e em casos extremos à morte do embrião (SAVAGE, 1968). A deficiência de manganês durante o desenvolvimento embrionário ou pós-natal, pode causar severas anormalidades de esqueleto (LIU et al., 1994). A deficiência de zinco causa anormalidades na cabeça, membros e vértebras (BERGER, 1987). Diferentes autores, O'DELL et al. (1961) e McDOWEL, (1992), têm confirmado que deficiência de cobre em pintos acarreta em degeneração dos tecidos elásticos da aorta, com rupturas dos vasos sanguíneos, elevada incidência de hemorragia, anemia e alta mortalidade por aneurisma. Portanto o fornecimento desses minerais quelatados via inoculação *in ovo* tem sido constantemente pesquisado.

Independente dos nutrientes utilizados nas soluções, esses devem ser de alta pureza e estéreis.

A inoculação de produtos *in ovo* é uma realidade tendo seu uso



crecente em diversos países. Em escala industrial, ela pode ser realizada por máquinas de vacinação *in ovo*, sendo os nutrientes introduzidos sozinhos ou em conjunto com as vacinas durante a transferência dos ovos das incubadoras para os nascedouros.

## **NUTRIÇÃO *IN OVO* E MORTALIDADE EMBRIONÁRIA**

Os benefícios proporcionados pela nutrição embrioária são claros, entretanto, essa técnica é recente e pouco se sabe acerca dos níveis e tipos de nutrientes que podem ser utilizados na nutrição do embrião. Muitas vezes, os níveis e a composição dos nutrientes inoculados *in ovo* são omitidos. Portanto, a obtenção de respostas positivas não só depende da composição da solução, mas também da osmolaridade e do volume da solução injetada no ovo.

Alta concentração da solução pode causar desequilíbrio osmótico e resultar no óbito do embrião. A osmolaridade de soluções nutritivas a serem inoculadas *in ovo*, a base de carboidratos, devem ser mantidas entre 300 a 650 mOsm (FERKET et al., 2005), para que não haja desequilíbrio e, conseqüentemente, morte do embrião. Trabalhando com ovos grandes INGRAN et al. (1997) não constataram aumento na mortalidade embrionária com a inoculação 0,5 ml de solução de glicose, resultados semelhantes foram obtidos por UNI et al. (2005) que inocularam 1 ml de solução de carboidratos em ovos provenientes de matrizes com 39 semana de idade. Provavelmente existe relação entre a idade da matriz, o tamanho de ovo e o volume de solução nutritiva inoculada no embrião.

## **EFEITO DA NUTRIÇÃO *IN OVO* SOBRE FRANGOS DE CORTE**

A nutrição *in ovo* estimula o desenvolvimento precoce das aves, que caso contrário, só ocorreria após a eclosão; proporciona menor incidência de problemas esqueléticos (Ferket 2006); melhor eficiência digestiva; maior desenvolvimento muscular; e redução da mortalidade e morbidez pós-eclosão. Os benefícios da nutrição embrionária estão basicamente, na sua ação sobre o sistema imunológico e o crescimento dos frangos de corte. Entretanto, o grau de resposta a essa prática pode depender da genética e da idade da matriz, do tamanho de ovo e das condições de incubação.

## **EFEITO DA NUTRIÇÃO *IN OVO* SISTEMA IMUNOLÓGICO**

O saco vitelino é a primeira experiência digestiva da ave, sendo de importância para a futura diferenciação dos enterócitos e o desenvolvimento da mucosa intestinal. Outra função importante do saco vitelino é a proteção contra os desafios microbiológicos após a eclosão, que é cumprida através da ação das imunoglobulinas IgA e IgG depositadas originalmente no albúmen e na gema.

Estruturalmente, as frações lipídicas e protéicas presentes no conteúdo do saco vitelino são utilizadas para a síntese celular e manutenção da imunidade passiva, porém, são oxidadas na ausência de ingestão de energia via oral. Provavelmente, a administração de nutrientes no âmnio via injeção *in ovo* pode aumentar as reservas de glicogênio atendendo as demandas energéticas do neonato e poupando os nutrientes do saco vitelino para



desenvolvimento do sistema imune da ave.

GORE E QURESHI (1997) trataram embriões de frangos de corte com vitamina E ou solução salina estéril no âmnio. Verificaram que as aves que receberam o tratamento de 10 UI de vitamina E apresentaram maior produção de anticorpos IgA e IgG, entretanto, o ganho de peso, o peso de bursa e o peso do baço foram semelhantes ao das aves do tratamento controle no 35º dia de vida. Já a inoculação de solução contendo glicina, prolina, leucina, isoleucina, valina, treonina e serina, em ovos com 14 dias de incubação, proporcionaram aos pintinhos, maior peso vivo e melhor resposta imune ao 3º dia pós-eclosão (JOHRI, 2006).

A nutrição *in ovo* também estimula o desenvolvimento da mucosa intestinal, o que reflete na resposta imunológica do frango. Pintos são suscetíveis à colonização por patógenos devido a baixa microflora simbiótica da mucosa do intestino, sendo que a camada de muco do epitélio intestinal é a primeira barreira física contra infecções (FERKET e UNI, 2006). O número de células goblet, produtoras de muco, podem ser aumentados com a inoculação de nutrientes via injeção *in ovo*.

SMIRNOV et. al. (2006) observaram que embriões alimentados com solução de carboidratos aumentaram a área dos vilos na eclosão e no terceiro dia de vida em 27% e 21%, respectivamente. Além disso, a proporção de células de goblet aumentou 50% em relação ao grupo controle e os pintinhos provenientes de ovos inoculados apresentaram maior expressão do RNAm na mucosa, o que pode aumentar a resistência contra a colonização por patógenos.

## EFEITO DA NUTRIÇÃO *IN OVO* CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO

No fim da incubação os embriões utilizam a reserva de energia para atender a alta demanda de glicose necessária para o desenvolvimento embrionário. Embora a glicose possa ser sintetizada a partir de gordura e de proteína, a glicose utilizada no ultimo quarto de incubação e obtida pela gliconeogênese de proteínas (produção de glicose a partir de proteína) e/ou pelo glicogênio do fígado, devido a limitação do oxigênio nesse período. Assim, o embrião na sua fase final de desenvolvimento e o pintinho neonatal dependem da gliconeogênese de aminoácidos resultando na degradação de proteína muscular e na limitação da energia disponível, reduzindo assim o crescimento e o desenvolvimento da ave.

A inoculação de nutrientes no fluido amniótico antes da eclosão pode aumentar a energia disponível para o embrião elevando a reserva de glicogênio, enquanto diminui o uso das proteínas musculares, favorecendo o desenvolvimento muscular e o rendimento de peito.

Trabalhando com perus, FOYE et al. (2003) observaram que a administração de soluções de proteína de ovo (P),  $\beta$ -hidrox- $\beta$ -metilbutirato (HMB) e P + HMB aos 23 dias de incubação, aumentou o nível de glicogênio total do músculo, o que acarretou em aumento de peso de 6,1%, 3,4% e 2,7% respectivamente ao nascimento, sendo essa resposta mantida até o 7º dia pós-eclosão.

Experiências revelaram que a inoculação de carboidrato e de proteína (UNI & FERKET 2004) melhorou a reserva de glicogênio hepático em média 75% aos 20 dias de incubação e 47% na eclosão, em



comparação com o tratamento controle

Em outro experimento UNI et al. (2005) constataram que a administração de uma solução de carboidratos e de HMB no âmnio via injeção *in ovo* aos 17,5 dias de incubação, resultou em aumento de 6 a 12 mg de glicogênio por grama de tecido vivo do embrião, propiciando aumento de 6 a 8% de rendimento peito em relação ao grupo controle aos 25 dias de idade (Tabela 1).

A administração de açúcares *in ovo* tem efeito positivo sobre a concentração de glicogênio no embrião, contribuindo para melhor desempenho da ave. Esses carboidratos também elevam as atividades das enzimas produzidas no intestino (TAKO et al., 2004a) aumentando a capacidade de digestão e de absorção dos nutrientes que é reduzida na fase final do desenvolvimento embrionário.

**Tabela 1.** Peso e rendimento de peito de frangos (Ross) com 10 e 25 dias de idade<sup>1</sup>.

	10 dias		25 dias	
	Controle	In ovo <sup>1</sup>	Controle	In ovo
Peso Vivo (g)	243 <sup>b</sup>	254 <sup>a</sup>	943 <sup>b</sup>	997 <sup>a</sup>
Peso do músculo do peito (g)	27,9 <sup>b</sup>	30,3 <sup>a</sup>	114 <sup>b</sup>	130 <sup>a</sup>
Rendimento do peito (%)	11,41 <sup>b</sup>	12,3 <sup>a</sup>	12,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>a</sup>
Diferença (%) do rendimento	+5,2		+8,3	

<sup>1</sup> Injeção de carboidratos e HMB *in ovo* aos 17,5 dias da incubação.

Adaptado de UNI et al. (2005).

Embora a capacidade digestiva começa a se desenvolver antes da eclosão, seu maior desenvolvimento ocorre após o consumo de alimento pelo pintinho. Assim, o processo de maturação da mucosa intestinal nas primeiras semanas de vida pode afetar de forma significativa o desempenho das aves.

A maturidade da mucosa intestinal é representada pelo aumento na produção e na atividade das enzimas digestivas, de transportadores de membrana e pelo desenvolvimento dos enterócitos das criptas. Pesquisas

mostram que a maturidade intestinal pode ser influenciada por agentes tróficos, que estimulam o processo mitótico das células intestinais, e estão relacionados com a ingestão e digestão dos alimentos, bem como, com as propriedades químicas dos nutrientes presentes no lúmen intestinal.

Os embriões das aves têm capacidade de digestão e de absorção de nutrientes limitada no período final de incubação. Quanto mais cedo o intestino alcançar sua capacidade funcional, mais cedo o pintinho pode utilizar os nutrientes da dieta, crescer

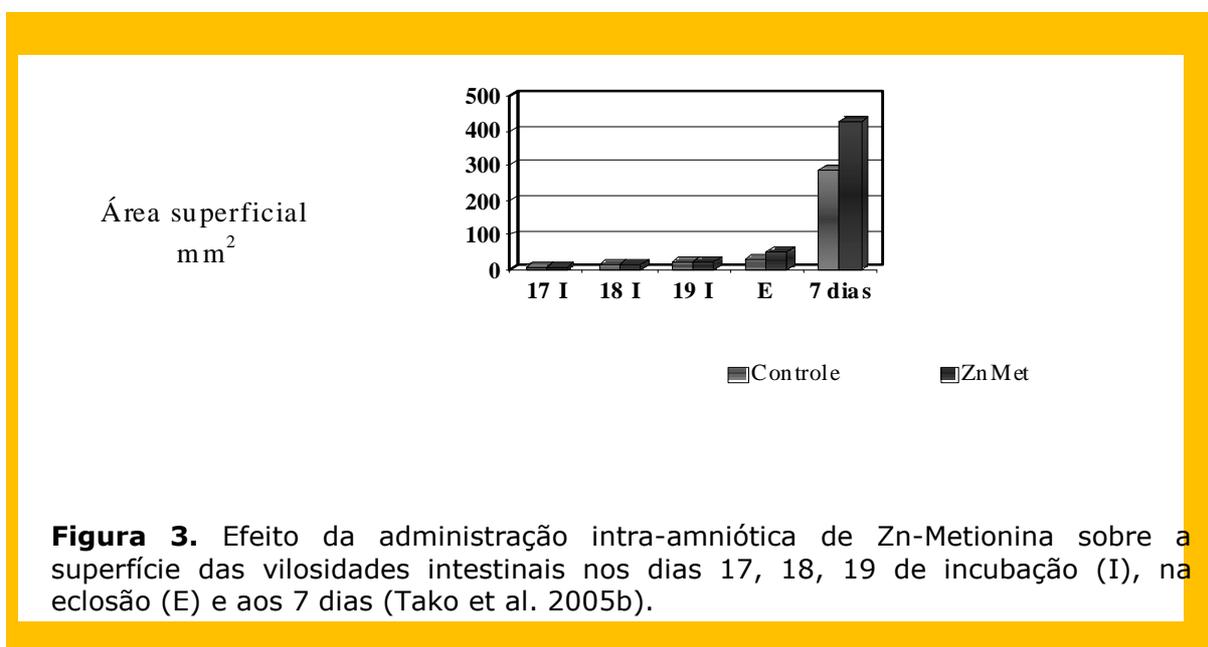


de acordo com seu potencial genético e ser resistente aos processos infecciosos.

Considerando que o acesso à alimentação pelo neonato é crítico para o desenvolvimento da capacidade digestiva, a nutrição *in ovo* permite a introdução de nutrientes específicos em contato com o enterócito, direcionando sua diferenciação, aumentando, assim, a capacidade de digerir alimentos pelo pintinho após eclosão. FOYE et al. (2005) constataram que pintos provenientes de ovos inoculados com arginina mais HMB apresentaram aumento das enzimas sucrase e maltase 48 horas após a administração do nutriente e 14 dias após a eclosão, além de apresentarem 3-4% a mais de peso vivo.

TAKO et al. (2004a) verificaram aumento na área de superfície das

vilosidades de 33% para pintinhos provenientes de ovos inoculados com sacarose, maltose e dextrina (CHO), e aumento de 50% na atividade da enzima maltase em aves tratados com solução de CHO mais HMB, isso acarretou aumento de 5 a 6,2% no peso vivo dos frangos quando comparado ao controle, no 10º dia de vida. Posteriormente, estudando o efeito da inoculação do quelato Zinco-Metionina em embriões com 17 dias de idade, TAKO et al. (2005b) relataram que a inoculação *in ovo* acelerou o desenvolvimento intestinal de frangos de corte melhorando a sua funcionalidade. Foi observada melhoria na atividade bioquímica das enzimas dos enterócitos e de transportadores, bem como na área superficial das vilosidades intestinais no momento da eclosão quando comparado com aves que não receberam Zinco-Metionina (Figura 3).



**Figura 3.** Efeito da administração intra-amniótica de Zn-Metionina sobre a superfície das vilosidades intestinais nos dias 17, 18, 19 de incubação (I), na eclosão (E) e aos 7 dias (Tako et al. 2005b).

Pesquisas desenvolvidas na Universidade Federal de Viçosa avaliaram o efeito da inoculação de 0,5 ml de solução salina (controle positivo), de solução nutritiva de carboidratos (glicose mais sacarose), de 12 vitaminas e de minerais

quelatados (zinco, manganês e cobre), em embriões com 17,5 dias de incubação, sobre o desempenho e o desenvolvimento do sistema imune de pintos de corte. Pintinhos provenientes de ovos inoculados com solução de 2,5% glicose + 3% sacarose



apresentaram melhores resultados para ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito aos 21 dias de idade. A melhora foi da ordem de 3,4% e 5% no ganho de peso e no peso do peito sem pele e

osso, respectivamente, quando comparados ao grupo controle (Quadro 2). Embora a inoculação dessas soluções *in ovo* não tenha afetado o crescimento dos órgãos imunes das aves.

**Tabela 2.** Efeito da inoculação de soluções nutritivas *in ovo* sobre o desempenho e rendimento de cortes de frangos aos 21 dias de idade.

	Desempenho		Peito sem pele e osso	
	GP (g)	CA(g)	g/Ave	% do P.V.
Controle (-)	679,78 <sup>b</sup>	1,53 <sup>b</sup>	140,65 <sup>b</sup>	15,22 <sup>b</sup>
Solução salina (0,5%)	682,60 <sup>b</sup>	1,54 <sup>b</sup>	140,79 <sup>b</sup>	15,11 <sup>b</sup>
Glic.(2,5%)+ Sac.(3,0%)	702,91 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	147,79 <sup>a</sup>	15,62 <sup>a</sup>
Solução de Vitaminas	691,91 <sup>ab</sup>	1,49 <sup>b</sup>	143,60 <sup>ab</sup>	15,30 <sup>b</sup>
Solução de Minerais quelatados	690,27 <sup>b</sup>	1,50 <sup>b</sup>	142,03 <sup>b</sup>	15,20 <sup>b</sup>
CV (%)	3,26	5,09	4,27	2,75

Fonte: Campos (2007)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nutrição *in ovo* é uma técnica relativamente recente e baseia-se no fornecimento de nutrientes para pintinhos na fase de desenvolvimento embrionário de forma a criar condições

de melhor crescimento pós-eclosão. A escolha dos produtos a serem inoculados assim como suas concentrações depende de novos estudos na área, porém, a suplementação de ingredientes *in ovo* no líquido amniótico do embrião é uma prática promissora para melhorar o desempenho e aumentar o rendimento dos cortes das aves dentro do processo industrial de criação de frangos de corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGER, L.L. **Salt and Trace Minerals for Livestock, Poultry and Other Animals.** 4<sup>th</sup> ed. Salt Institute, Alexandria, VA, 1987. 140p

CAMPOS, A. M. A. C. **Efeito da inoculação *in ovo* de soluções nutritivas sobre o desempenho e o rendimento de carcaça de frangos de corte.** Viçosa: UFV,



**2007. 67p.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia da Universidade de Viçosa, 2007.

FERKET, P, DE OLIVEIRA, J., GHANE, A., UNI, Z. Effect of in ovo feeding solution osmolality on hatching turkeys. **Poultry Science**, v. 84, n. 1, p. 118, 2005.

FERKET, P., UNI, Z. Early feeding – in ovo feeding enhances of early gut development and digestive capacity of poultry. In: CONFERENCE EUROPEAN POULTRY 12<sup>th</sup>, Verona. **Anais...** Conference European Poultry, 2006 (CD-ROM).

FOYE, O.T., UNI, Z., FERKET, P.R. The effects of in ovo feeding of protein and betamethyl- beta-hydroxybutyrate (HMB) on early growth and glycogen status of turkey poults. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 11, 2003.

FOYE, O., FERKET, P., UNI, Z. The effects of in ovo feeding of beta-hydroxy-betamethylbutyrate (HMB) and arginine on jejunal expression and function in turkeys. **Poultry Science**, v. 84, n. 1, p. 41, 2005.

GORE, A.B., QURESHI, M.A. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. **Poultry Science**, v. 76, p. 984-991, 1997.

INGRAN, D. R., DEAO, C. E., FLOYD, S.A. et al. **Effects of in ovo injection of glucose on subsequent body weight.** Poultry Science 76: 51, 1997.

JOHRI, T.S. Feasibility of *in ovo* amino acid injection for embryonic growth and optimizing total and digestible amino acid requirements for meat production and immunocompetence of broiler chickens. **Poultry nutrition in India.** Disponível em: <http://www.fao.org> Acesso em: 15/11/2006

LIU, A.C., HEINRICH, B.S., LEACH Jr., R. M. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. **Poultry Science**, v. 73, p.663, 1994.

MacDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition.** Academic Press, NewYork., 524p., 1992.

MORAN, E. T. Digestion and absorption in fowl and events through prenatal development. **Journal Nutritional.**,v.115, p.665–674, 1985.

O'DELL, B.L., HARDWICK, B.C., REYNOLDS, G., SAVAGE, J.E. Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 108, p. 402–405, 1961.

OHTA, Y., KIDD, M. T., ISHIBASHI, T. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. **Poultry Science**, v. 80, p.1430–1436, 2001.

SAVAGE, J.E. Trace minerals and avian reproduction. **Federation Proceedings**, v.27, p. 927–931, 1968

SKLAN, D.; GEYRA, A.; TAKO, E. et al. Ontogeny of brush border carbohydrate digestion and uptake in the chick. **British Journal of Nutrition**, v.89, n.6, p.747-753, 2003.



SMIRNOV, A., TAKO, E., FERKET, P.R., UNI, Z. Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates. **Poultry Science**, v. 85, p. 669-673, 2006.

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

TAKO, E., FERKET, P.R., UNI, Z. Zinc-methionine enhances the intestine development and functionality in the late term embryos and chicks. **Poultry Science**, v.83, p.267, 2004b.

UNI, Z., FERKET, P.R. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v.60, n. 11, p.101-111, 2004.

UNI, Z., FERKET, P.R., TAKO, E., KEDAR, O. In Ovo Feeding Improves Energy Status of Late-Term Chicken Embryos. **Poultry Science**, v. 84, n. 5, p. 764-770, 2005.