

Uso de aminoácidos na alimentação *in ovo*

Use of amino acids on in ovo feeding

RUFINO, João Paulo Ferreira^{1,*}; CRUZ, Frank George Guimarães²;
FARIAS, Thaysa Marinho³; MELO, Lucas Duque²

¹ UEA, Escola Superior de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Manaus, Amazonas, Brasil.

² UFAM, Faculdade de Ciências Agrárias, Depart. de Produção Animal e Vegetal, Manaus, Amazonas, Brasil.

³ UFAM, Faculdade de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Manaus, Amazonas, Brasil.

* E-mail para correspondência: joaopaulorufino@live.com

RESUMO

O objetivo deste artigo foi, por meio de levantamento bibliográfico, revisar resultados de pesquisa que demonstrem os efeitos do uso de aminoácidos na alimentação *in ovo*. A revisão da literatura foi realizada a partir da investigação de artigos e material técnico-científico relacionados ao tema. Os estudos avaliados evidenciaram um constante processo de evolução na tecnologia de alimentação *in ovo*, com a descoberta de inúmeros efeitos positivos do uso de aminoácidos sobre a fisiologia e o metabolismo dos embriões avícolas. Entretanto, houve também a descoberta de alguns efeitos adversos que estas biomoléculas podem ocasionar sobre o desenvolvimento embrionário das aves, especialmente nos períodos pré e pós-eclosão. Conclui-se, portanto, que o uso de aminoácidos na alimentação *in ovo* afeta diretamente as características de eclosão dos ovos inoculados. Além disso, pintos oriundos de ovos inoculados com aminoácidos tendem a apresentar um aumento substancial no peso corporal e um incremento nas áreas do trato gastrointestinal, especialmente na região intestinal, e no saco vitelino. Neste aspecto, os aminoácidos inoculados podem atuar tanto na síntese protéica e construção muscular, quanto no metabolismo energético. Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados acerca dos efeitos destes aminoácidos sobre o metabolismo das aves, principalmente nos períodos pós-eclosão.

Palavras-chave: alimentação *in ovo*, biotecnologia, desenvolvimento embrionário, incubação.

ABSTRACT

This paper aimed to review the use of amino acids to *in ovo* feeding. The literature review was performed from the papers and technical-scientific materials related to the topic. The evaluated studies presented a constant process of evolution on *in ovo* feeding technology, where there was the discovery of numerous positive effects about the use of amino acids on physiology and metabolism of poultry embryos. However, were observed some adverse effects that these biomolecules may cause on these embryos, especially in pre- and post-hatch periods. It is concluded, therefore, that the use of amino acids to *in ovo* feeding directly affects the hatching characteristics of fertile eggs. Furthermore, chicks from eggs inoculated with amino acids tend to present a substantial increase in body weight and gastrointestinal tract areas, especially in the intestinal region, and on the yolk sac. In this sense, the amino acids can act both in protein synthesis and muscle building, and in energy metabolism. However, it is necessary studies about the effects of these amino acids on birds' metabolism, especially in the post-hatch periods.

Keywords: biotechnology, embryo development, *in ovo* feeding, incubation.

INTRODUÇÃO

Durante o período de incubação e nas primeiras horas após a eclosão, as aves apresentam funções digestivas limitadas, o que representa uma capacidade digestiva mínima durante o processo de consumo do líquido amniótico por via oral aos 17 dias de incubação (UNI *et al.*, 2005). Ao contrário dos mamíferos, o crescimento e o desenvolvimento dos embriões das aves durante o período de incubação dependem diretamente dos nutrientes depositados no ovo fértil durante o seu processo de formação (UNI *et al.*, 2012).

E apesar do ovo ser considerado nutricionalmente completo, as linhagens industriais modernas tendem a apresentar uma exigência de nutrientes mais elevada. Neste sentido, as porcentagens de aminoácidos, carboidratos, vitaminas, minerais e lipídios podem ser suficientes apenas para suprir as exigências de nutrientes nas fases inicial (1 a 7 dias) e intermediária (8 a 14 dias) do período de desenvolvimento embrionário, podendo comprometer o seu desenvolvimento na fase tardia (15 a 21 dias) de incubação e durante o processo de eclosão (GONZALES *et al.*, 2013). A partir disso, a alimentação *in ovo* pode atuar como uma ferramenta eficaz na melhoria do desenvolvimento destes embriões, atuando justamente no atendimento dessa necessidade adicional de nutrientes nestes períodos específicos (ZHANG *et al.*, 2017).

A alimentação *in ovo* na fase de pré-eclosão (patente registrada nos EUA sob o nº 6.592.878 por Uni e Ferket (2003a)) é uma tecnologia utilizada na indústria avícola que envolve a administração de nutrientes exógenos aos embriões avícolas em desenvolvimento, especialmente galináceos e perus. Esta tecnologia visa ofertar ao embrião uma concentração de nutrientes que possivelmente pode estimular o desenvolvimento do trato gastrointestinal e diminuir os efeitos deletérios causados pela necessidade adicional de nutrientes nos períodos pré e pós-eclosão, como perda de peso e utilização da gliconeogênese para obtenção de energia (FOYE *et al.*, 2006).

Neste contexto, os nutrientes administrados durante o processo de alimentação *in ovo* geralmente encontram-se ligados a uma função metabólica específica do pintinho. Estes nutrientes veiculados nas soluções inoculadas podem atuar como fontes de energia (sacarose, dextrina, maltose e glicose), sobre o sistema imunológico (vitamina E, cobre e probióticos), no metabolismo e anabolismo protéico (β -hidroxi-metil-burirato e aminoácidos: metionina, lisina, treonina, arginina e leucina) e/ou como agentes tróficos da mucosa intestinal (zinco e ácido butírico) (UNI & FERKET, 2004).

Especificamente quanto aos aminoácidos, a sua utilização já provou-se viável (OHTA *et al.*, 1999), podendo aumentar o peso do pintinho na eclosão, o

status energético, a função intestinal e o desempenho de crescimento (AL-MURRANI, 1982; OHTA *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2019). Ohta *et al.* (1999) também relataram que a alimentação *in ovo* de aminoácidos exógenos visa atender ao requisito ideal de aminoácidos essenciais e não essenciais para a síntese de proteínas embrionárias, acréscimo e, conseqüentemente, produção muscular (UNI & FERKET, 2004; FERKET *et al.*, 2006; EBRAHIMI *et al.*, 2017; COSKUN *et al.*, 2018).

Diante do exposto, o objetivo deste artigo foi, por meio de levantamento bibliográfico, revisar resultados de pesquisa que demonstrem os efeitos do uso de aminoácidos na alimentação *in ovo*.

DESENVOLVIMENTO DO TRATO GASTROINTESTINAL DOS EMBRIÕES DURANTE A INCUBAÇÃO

Nas aves, o desenvolvimento do trato gastrintestinal tende a se iniciar entre as primeiras 24 a 96 horas de vida do embrião. Cronologicamente, no terceiro dia de incubação, o tecido do intestino é derivado de endoderme circundado por mesoderme esplâncico e divide-se em intestino anterior, intestino médio e intestino grosso (MOORE & PERSAUD, 2008). A endoderme originará o revestimento epitelial do intestino e os ductos das glândulas mucosas, enquanto a mesoderme dá origem à parede muscular e ao

tecido conjuntivo (DIBNER & RICHARDS, 2004; DIBNER *et al.*, 2007).

No quinto dia de vida embrionária, ocorre a diferenciação da boca, assim como a formação do pró-ventrículo e da moela, enquanto no sexto dia de vida tem-se início a formação do bico e a diferenciação morfológica da alça duodenal, do intestino delgado e dos cecos. Já no décimo quarto dia, ocorre a introdução do intestino na cavidade abdominal e no décimo sétimo dia a abertura do divertículo de Meckel e no meio intestinal inicia-se o mecanismo fisiológico da absorção do saco vitelínico (MAIORKA *et al.*, 2002).

Verifica-se ainda que a taxa de crescimento do intestino delgado é maior que os demais órgãos. Neste sentido, aos 18 dias de incubação, o intestino delgado do embrião chega a ser maior proporcionalmente que o peso corporal do mesmo (UNI *et al.*, 2003b,c). A morfologia do intestino delgado muda rapidamente com o crescimento acelerado da muscular externa e das vilosidades. Exemplificando, no 15º dia de incubação as vilosidades ainda são rudimentares, entretanto, no 17º dia já são observadas vilosidades em diferentes fases do desenvolvimento, podendo ser classificadas em duas fases: V1) vilosidades maiores, em forma de pêra; e V2) vilosidades menores (aproximadamente 65% do tamanho das vilosidades maiores), mais estreitas e com forma de foguete. Neste sentido, adjacente a cada vilosidade maior há uma vilosidade menor. Padrão similar é observado entre 18 e

19 dias de incubação, com vilosidades em ambas as fases de desenvolvimento. A taxa de crescimento das vilosidades V1 e V2 entre 19 e 20 dias de incubação chega a ser de 30 a 40% (UNI *et al.*, 2003b).

É fato que o maior progresso no desenvolvimento do trato gastrointestinal dos pintos ocorre nos últimos dias de incubação, apresentando mudanças drásticas que preparam o animal para receber a alimentação exógena, incluindo basicamente a diferenciação dos enterócitos e a definição das criptas, bem como, o grande aumento da superfície absorptiva do intestino. As células epiteliais do intestino delgado do embrião são colunares até a eclosão, enquanto no 21º dia de incubação cada vilosidade apresenta somente uma cripta rudimentar (FREEMAN & VINCE, 1974; SKLAN, 2001).

Ozaydin e Celik (2012) consideram que estas mudanças celulares que ocorrem no desenvolvimento do intestino delgado no período embrionário, especialmente a partir do 18º dia de incubação, prepararam o trato gastrointestinal das aves para o período pós-eclosão no qual ocorre a rápida transição para a nutrição exógena. Entretanto, apesar da existência do órgão responsável pela absorção dos nutrientes, este ainda é afuncional. No período de incubação, os nutrientes para o embrião advêm dos lipídios presente no saco vitelínico e das proteínas presentes no albúmen. Estes são diretamente transportados para o sangue pelo processo de endocitose (SANTOS *et al.*, 2010).

Segundo Sklan (2001), após a eclosão, o trato gastrointestinal está totalmente desenvolvido, porém imaturo. Neste momento, ocorre a preparação do sistema digestório, que passará de uma dieta rica em lipídios para uma dieta rica em carboidratos e proteínas. E dentre as mudanças que sucedem o período pós embrionário, a mais relevante é o aumento da atividade enzimática na borda em escova e nos órgãos que as secretam (NITSAN *et al.*, 1991).

E apesar da ave não ter ingerido alimento até o momento da eclosão, as enzimas do intestino e pâncreas, bem como a capacidade de transporte de nutrientes, já encontram-se presentes (BUDDINGTON, 1992). Entretanto, a capacidade de digestão dos nutrientes não está totalmente estabelecida neste momento (KROGDAHL & SELL, 1989). Mudanças ontogenéticas ocorrem tanto antes quanto após a eclosão, incluindo o aumento nos níveis de enzimas pancreáticas e intestinais (NOY & SKLAN, 1995; SKLAN & NOY, 2000), aumento da área de absorção total do trato gastrointestinal (IJI *et al.*, 2001; SKLAN *et al.*, 2003), e mudanças nos transportadores de nutrientes (BUDDINGTON & DIAMOND, 1989; SKLAN *et al.*, 2003).

Estruturalmente, todos os enterócitos encontram-se em proliferação, passando por um processo de hipertrofia e ganhando a morfologia típica de enterócitos nas primeiras 24 horas pós-eclosão (GEYRA *et al.*, 2001). Grandes alterações morfológicas e

fisiológicas como a proliferação, diferenciação, maturação celular, apoptose e na estrutura da mucosa do intestino delgado ocorre nos primeiros dias após a eclosão (DIBNER & RICHARDS, 2004).

ALIMENTAÇÃO IN OVO

A tecnologia de inoculação de nutrientes in ovo, ou “nutrição in ovo”, ou mesmo “alimentação in ovo”, deriva da tradução da terminologia em inglês “in egg feeding” ou “in ovo feeding”, e é considerada uma prática ainda experimental na ciência e na indústria avícola, porém que pode representar uma importante ferramenta na solução de diversos problemas pré e pós-eclosão (RUFINO *et al.*, 2018). Neste contexto, Uni e Ferket (2004) afirmaram através de seus estudos experimentais que a mortalidade dos embriões durante o período crítico pós-nascimento, quando eles estão se ajustando a novos ambientes e fontes de nutrientes, pode ser aliviada pela administração in ovo de nutrientes quando estes encontram-se no estágio final de desenvolvimento embrionário. Porém, o uso de alguns desses vários nutrientes necessita ter sua eficácia comprovada para que haja uma ampla aplicação pela indústria avícola.

A administração de nutrientes in ovo visa melhorar o desenvolvimento inicial do trato digestivo através do estímulo sobre as enzimas digestivas e no desenvolvimento vilosidades intestinais (GEYRA *et al.*, 2001).

Além disso, o acesso precoce do pintainho a um determinado tipo de alimentação exógena pode auxiliar na melhora do seu desempenho, do desenvolvimento do trato gastrointestinal e, conseqüentemente, no desenvolvimento de outros órgãos (LEITÃO *et al.*, 2005).

De acordo com Foye (2006), a alimentação in ovo estimula o desenvolvimento precoce do trato gastrointestinal, pois os nutrientes não respondem apenas ao estímulo físico, mas também às características químicas dos nutrientes, aumentando a capacidade de digestão e de absorção do intestino. Em estudo realizado por Tako *et al.* (2004), aumentou a atividade enzimática na borda em escova do intestino delgado e promoveu maior desenvolvimento das vilosidades, a partir de 48 horas após a suplementação de nutrientes in ovo aos 17,5 dias de incubação.

Todavia, estas respostas positivas não dependem unicamente da composição das soluções utilizadas e das concentrações de nutrientes ali contidas, mas também do volume e osmolaridade destas soluções injetadas no âmnio (FERKET *et al.*, 2005). Em altas concentrações, a solução nutritiva pode ocasionar um desequilíbrio osmótico na fisiologia do animal, resultando no óbito do mesmo em períodos intermediários (pintos e/ou embriões mortos entre 16 e 18 dias de incubação), tardios (pintos e/ou embriões mortos entre 19 e 21 dias de incubação, após a inoculação, sem bicagem da casca do ovo) ou mesmo na pós-bicagem (pintos e/ou

embriões mortos entre 19 e 21 dias de incubação, após a inoculação, com bicagem da casca do ovo) (DAMASCENO *et al.*, 2017).

Já fora atestado que os embriões avícolas apresentam em suas reservas fisiológicas uma quantidade limitada de nutrientes disponíveis para seu desenvolvimento. E o fornecimento de nutrientes exógenos durante este período de desenvolvimento embrionário pode atuar como uma adicional de nutrientes justamente neste período de desenvolvimento, resultando em um maior peso do pinto ao nascer, maior viabilidade, maior desenvolvimento do trato gastrointestinal, dentre outros. Outrora, há uma série de fatores que vão influenciar diretamente este resultado, tais como o tipo de nutriente utilizado, o período de incubação/desenvolvimento embrionário, a estrutura do ovo utilizada para administração dos nutrientes, a técnica utilizada para administração dos nutrientes dentre outros (RUFINO *et al.*, 2018).

METABOLISMO DOS AMINOÁCIDOS E SEUS EFEITOS NA ALIMENTAÇÃO IN OVO

Pouco se sabe acerca dos diferentes efeitos que os nutrientes inoculados podem causar no embrião (UNI, 2003). No entanto, uma linha que pode nortear esta compreensão é o estudo específico da composição e suplementação do saco vitelino. O saco

vitelino, naturalmente, é a fonte primária de nutrientes para o embrião e o pintinho em suas primeiras horas de vida (BURNHAM *et al.*, 2001) contendo, aproximadamente, 51,7% de proteínas, 32,6% de gorduras, 4,8% de minerais e uma pequena quantidade de carboidratos (VIEIRA & MORAN, 1998). E embora os aminoácidos presentes no saco vitelino possam ser suficientes durante o desenvolvimento embrionário e o processo de eclosão, após o nascimento, este conteúdo torna-se insuficiente para auxiliar no crescimento da ave (OHTA *et al.*, 2004).

Kornasio *et al.* (2011) relataram que a inoculação de nutrientes no saco amniótico do embrião vários dias antes da eclosão favorece o crescimento dos embriões e dos pintainhos pós-eclodidos, pois como os embriões das linhagens modernas de frango de corte apresentam uma elevada exigência de energia, a inoculação de aminoácidos no líquido amniótico destes embriões em estágio avançado de desenvolvimento embrionário leva ao seu consumo, absorção intestinal e circulação nas áreas de armazenamento de energia, como o saco vitelino, facilitando o catabolismo de ácidos graxos para a via metabólica energética. Além disso, as reservas mais altas de glicogênio podem reduzir a necessidade de síntese de glicose via gliconeogênese a partir de proteínas musculares, direcionando o metabolismo energético para o desenvolvimento muscular (ALMQUIST *et al.*, 1941; FISHER *et al.*,

1956; KORNASIO *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2009; NOY & UNI, 2010).

Neste aspecto, o uso de aminoácidos na alimentação *in ovo* busca atuar justamente sobre estas vias metabólicas, podendo inclusive possibilitar diversos outros efeitos benéficos ao desenvolvimento dos embriões avícolas (OHTA *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2019), tal como o atendimento do requerimento ideal de aminoácidos essenciais e não essenciais para a síntese de proteínas durante o desenvolvimento do embrião, e, conseqüentemente, favorecer a produção muscular (UNI & FERKET, 2004; EBRAHIMI *et al.*, 2017; COSKUN *et al.*, 2018). A creatina, a síntese endógena de glicina, arginina e metionina, que pode ser fosforilada como a fosfocreatina, são moléculas nitrogenadas que podem justamente atuar nestas funções, sendo especialmente importantes para o metabolismo energético do embrião (BROSNAN & BROSNAN, 2007; NABUURS *et al.*, 2013).

Wyss e Kaddurah-Daouk (2000) relataram que livros de bioquímica negligenciam a importância do sistema de creatina quinase, fosforilcreatina e creatina no metabolismo energético. Geralmente, supõe-se que o transporte de fosfato de alta energia entre os locais de produção de ATP (mitocôndrias, glicólise) e o consumo de ATP (todos os tipos de ATP-celular) dependem apenas da difusão de ATP e ADP.

Esse conceito pode refletir a situação em tecidos desprovidos de creatina quinase e fosforilcreatina, como o fígado, mas é claramente inadequado para creatina quinase que contém tecidos com alta e flutuante demanda de energia, como músculo esquelético ou cardíaco (WYSS & KADDURAH-DAOUK, 2000). O sistema de creatina e fosforilcreatina desempenha um papel importante na manutenção da homeostase energética que pode transferir um grupo fosfato do ADP para a re-síntese do ATP (ALLEN, 2012).

Alguns estudos indicaram que as concentrações de creatina plasmática ou tecidual podem ser reduzidas quando os pintinhos são alimentados com dietas deficientes em aminoácidos e que a suplementação de creatina nessas dietas resulta em melhor desenvolvimento (ALMQUIST *et al.*, 1941; FISHER *et al.*, 1956). Neste sentido, Ohta *et al.* (2001) relataram ainda que o aumento no peso de pintos alimentados *in ovo* com aminoácidos é ocasionado pelo aumento no conteúdo de aminoácidos da gema ou na utilização destes aminoácidos pelo embrião. De acordo com Zhao *et al.* (2017), a inoculação de creatina piruvato aumentou a capacidade energética dos músculos destes embriões, reduzindo a necessidade de síntese de glicose via gliconeogênese a partir de proteínas musculares e sendo benéfica para a construção muscular.

Por outro lado, a metionina, principal aminoácido limitante para as aves, atua majoritariamente na síntese protéica, sendo ainda uma fonte de enxofre que pode ser doado para a síntese de outros componentes químicos que apresenta o enxofre em sua composição (WU, 2003). Além disso, possui grande participação na síntese da cisteína que é também utilizada para a síntese da proteína corporal, formação da pele, penas e pêlos, sendo este aminoácido importante frente ao estresse e ao status inflamatório (TESSERAUD *et al.*, 2009).

Outra importante função da metionina é o seu papel como precursora da sarcosina, que através da via de transmetilação tem função importante na estrutura de várias proteínas incluindo as imunoglobulinas, ligando várias ligações polipeptídicas via pontes dissulfeto. É precursora ainda da glutathione, este aminoácido tem função antioxidante celular, atuando na proteção das células contra o estresse oxidativo e é essencial na regulação da divisão celular, recuperando proteínas oxidadas, prevenindo assim, o acúmulo celular de proteínas danificadas, com implicações potenciais na saúde animal, no desenvolvimento tecidual e na qualidade de produtos (carne). Juntamente com a cisteína, a metionina é fundamental para a síntese de taurina (ácido 2-aminoetanosulfônico), aminoácido que age como um neuro-inibidor juntamente com a glicina (STADTMAN *et al.*, 2002).

Fisiologicamente, após todo o processo mecânico e enzimático para redução das proteínas em aminoácidos, os isômeros L-metionina e D-metionina, são transportados ao fígado local em que ocorre parte do metabolismo da metionina, sendo este responsável pela conversão da metionina hidroxianáloga e D-metionina para L-metionina (forma absorvida) (PILLAI *et al.*, 2006; STUBS *et al.*, 2002; DIBNER *et al.*, 2007). Após chegar ao fígado, a metionina tem seu processo de metabolização dividida em 3 fases: metilação (a metionina é convertida em homocisteína), remetilação (a homocisteína é convertida em metionina), e transulfuração (a homocisteína é convertida em cisteína) (STUBS *et al.*, 2002; DIBNER *et al.*, 2007). É importante salientar que a metionina e a cisteína encontram-se metabolicamente ligados justamente devido essa via de transulfuração unidirecional, que permite que metionina atue como a fonte de enxofre para a síntese de cisteína. Nesta rota metabólica, os aminoácidos entram no plasma sanguíneo e circulam como aminoácidos livres até serem removidos pelos tecidos. O fígado remove uma proporção substancial dos aminoácidos que contêm enxofre da circulação portal e os utiliza para a síntese de proteínas (STIPANUK, 2004)

No âmbito da alimentação in ovo, em estudo desenvolvido por Elwan *et al.* (2018) utilizando metionina + cistina, verificou-se uma melhora no desenvolvimento

embrionário, especialmente na área intestinal, resultando em pintos mais pesados ao nascimento. Ao mesmo tempo, constatou-se valores aumentados do hormônio da tireóide, onde os autores associaram este resultado a um melhor metabolismo embrionário ocasionado justamente pela suplementação de aminoácidos exógenos. Além disso, Coskun *et al.* (2018) também relataram que o uso da metionina na alimentação in ovo não ocasionou efeitos negativos sobre o desempenho até 21 dias. Nesta mesma linha de raciocínio, Coskun *et al.* (2014) verificaram que a inoculação in ovo de metionina (50 mg de metionina para 1 mL de solução) na região do âmnio chega a aumentar o peso relativo do pintinho de 70 para 73%, mas pode diminuir a eclodibilidade em cerca de 5% em comparação ao grupo controle.

Já a glutamina destaca-se como o aminoácido livre mais abundante no fluido extracelular (aproximadamente 25% do total dos aminoácidos) e no pool de aminoácidos livres no corpo (mais de 60% do total de aminoácidos livres no músculo esquelético) (PIVA *et al.*, 2001). Este possui grande importância para os processos metabólicos, sendo indispensável para o desenvolvimento da maioria das células e tecidos (PIERZYNOWSKI *et al.*, 2001).

Esta costuma ser considerada um aminoácido não essencial, uma vez que a maioria das células animais pode sintetizá-lo. No entanto, durante períodos de crescimento acelerado, tais como o período embrionário

das aves, a demanda celular por glutamina supera sua oferta, e esta se torna essencial, daí a alcunha de aminoácido "condicionalmente" essencial deste aminoácido. Como ilustração, durante as duas primeiras semanas de crescimento e desenvolvimento de embriões avícolas, as células em proliferação apresentam uma demanda intensa por glutamina, refletindo sua flexibilidade como nutriente e mediador de outros processos (CURTHOYS & WATFORD, 1995; NEWSHOLME *et al.*, 2003).

Nutricionalmente, a glutamina pode exercer efeitos positivos, pois apresenta relação direta com a síntese protéica (JEPSON *et al.*, 1988; WELBORNE, 1995), além de afinidade com hormônio do crescimento (RAY *et al.*, 2003), cuja síntese se inicia na fase embrionária da ave (HARVEY *et al.*, 2001). Além disso, o efeito da glutamina sobre a reconstituição da mucosa intestinal tem sido amplamente investigado devido este aminoácido ser o principal metabólito que nutre os enterócitos (VASCONCELOS & TIRAPEGUI, 1998; PADOVESE, 2000) e, em altas concentrações, ser o precursor dos ácidos nucléicos, permitindo resposta imediata para a proliferação destas células sem entrar em contato com outras rotas metabólicas (SZONDY & NEWSHOLME, 1989).

E considerando que a glutamina é reconhecidamente um substrato energético para células com alto índice mitótico como os

enterócitos (LACEY & WILMORE, 1990), ela pode atuar como agente trófico intestinal através de sua administração in ovo. Esse aminoácido apresenta potencial para gerar 30 moles de ATP, o que o torna uma fonte de energia quase tão importante quanto a glicose (LACEY & WILMORE, 1990, HALL *et al.*, 1996; VIEIRA *et al.*, 2006). Neste contexto, Rahardja *et al.* (2018) utilizando L-glutamina na alimentação in ovo verificaram aumento na eclodibilidade e no peso dos pintos recém-eclodidos, além de uma precocidade nos nascimentos devido uma relativa redução na duração do período de incubação.

Ainda nesta perspectiva, destaca-se também a lisina, um aminoácido essencial que é considerado o segundo aminoácido limitante para determinação das exigências nutricionais das linhagens industriais, estando atrás apenas da metionina, sendo também o aminoácido utilizado na proporção de aminoácidos da proteína ideal (LIU *et al.*, 2012). Este atua principalmente na síntese de proteínas e é precursor de muitas substâncias ativas, como a L-carnitina (BAKER, 1997; HULLÁR *et al.*, 2008; KHEIRI & ALIBEYGHY, 2017).

Além disso, Ohta *et al.* (1999) verificaram que no final da incubação, o conteúdo de lisina diminui com o tempo de incubação, o que facilmente leva à uma insuficiência de lisina nos nutrientes a serem disponibilizados aos embriões das linhagens industriais modernas. Entretanto, quando utiliza-se uma suplementação in ovo de lisina, esta deficiência pode ser corrigida e ainda

melhorar o peso muscular, a morfologia intestinal e a concentração de metabólitos sanguíneos dos pintinhos (EBRAHIMI *et al.*, 2017). Zhu *et al.* (2019) comenta ainda que o uso da lisina na alimentação in ovo pode também ocasionar uma leve redução na eclodibilidade.

CONCLUSÕES

Conclui-se, portanto, que o uso de aminoácidos na alimentação in ovo afeta diretamente as características de eclosão dos ovos inoculados. Além disso, pintos oriundos de ovos inoculados com aminoácidos tendem a apresentar um aumento substancial no peso corporal e um incremento nas áreas do trato gastrointestinal, especialmente na região intestinal, e no saco vitelino. Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados acerca dos efeitos destes aminoácidos sobre o metabolismo das aves, principalmente nos períodos pós-eclosão. Neste aspecto, os aminoácidos inoculados podem atuar tanto na síntese protéica e construção muscular, quanto no metabolismo energético.

REFERÊNCIAS

ALLEN, P.J. Creatine metabolism and psychiatric disorders: does creatine supplementation have therapeutic value?. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, p. 1442-1462, 2012.

ALMQUIST, H.J.; MECCHI, E.; KRATZER, F.H. Creatine formation in the chick. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 141, p. 365-373, 1941.

AL-MURRANI, W.K. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v. 23, p. 171-174, 1982.

BAKER D.H. Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. **Biokyowa Technical Review**, v. 9, p. 1-24, 1997.

BROSNAN, J.T.; BROSNAN, M.E. Creatine: endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement. **Annual Review of Nutrition**, v. 27, p. 241-61, 2007.

BUDDINGTON, R.; DIAMOND, J. Ontogenetic development of intestinal nutrient transporters. **Annual Review of Physiology**, v. 51, p. 601-619, 1989.

BUDDINGTON, R. Intestinal nutrient transport during ontogeny of vertebrates. **American Journal of Physiology**, v. 32, p. 503-509, 1992.

CHEN, W.; WANG, R.; WAN, H.F.; XIONG, X.L.; PENG, P.; PENG, J. Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and

pectoralis muscle mass in the duck. **British Poultry Science**, v. 50, p. 436-442, 2009.

COSKUN, I.; ERENER, G.; SAHIN, A.; KARADAVUT, U.; ALTOP, A.; OKUR, A.A. Impacts of In Ovo Feeding of DL-Methionine on Hatchability and Chick Weight. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 2, p. 47-50, 2014.

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. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, p. 20170220, 2018.

CURTHOYS, N.P.; WATFORD, M. Regulation of Glutaminase Activity and Glutamine Metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 15, p. 133-159, 1995.

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

DIBNER, J.J.; RICHARDS, J.D. The digestive system: challenges and

opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, p. 86-93, 2004.

DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.; YI, G.F.; RICHARDS, J.D. Gut development and health in the absence of antibiotic growth promoters. **Journal of Animal Science**, v. 20, p. 1007-1014, 2007

EBRAHIMI, M.; JANMOHAMMADI, H.; KIA, H.D.; MOGHADDAM, G.; RAJABI, Z.; RAFAT, S.A.; JAVANMARD, A. The effect of L-lysine in ovo feeding on body weight characteristics and small intestine morphology in a day-old Ross broiler chicks. **Revue de Médecine Vétérinaire (Toulouse)**, v. 168, p. 116-125, 2017.

ELWAN, H.; ELNESR, S.; XU, Q.; XIE, C.; DONG, X.; ZOU, X. Effects of in ovo methionine-cysteine injection on embryonic development, antioxidant status, IGF-I and TLR4 gene expression, and jejunum histomorphometry in newly hatched broiler chicks exposed to heat stress during incubation. **Animals**, v. 9, p. 25, 2019.

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

FISHER, H.; SALANDER, R.C.; TAYLOR, M.W. The influence of creatine biosynthesis on the arginine requirement of the chick.

Journal of Nutrition, v. 59, p. 491-499, 1956.

FOYE, O.T.; UNI, Z.; FERKET, P.R. Effect of in ovo feeding egg white protein, β -hydroxy- β -methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. **Poultry Science**, v. 85, p. 1185-1192, 2006.

FREEMAN, B.M.; VINCE, R. L. **Development of the avian embryo**. London: Chapman and Hall, 1974.

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

GONZALES, E.; CRUZ, C.P.; LEANDRO, N.S.M.; STRIGHINI, J.H.; BRITO, A.B. In ovo supplementation of 25(OH)D₃ to broiler embryos. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 15, p. 169-286, 2013.

HALL, J. C., HEEL, K., MCCAULEY, R. Glutamine. **British Journal of Surgery**, v. 83, p. 305-312, 1996.

HARVEY, S.; JOHNSON, C.D.M.; SANDERS, E.J. Growth hormone in neural tissue of the chick embryo. **Journal of Endocrinology**, v. 169, p. 487-496, 2001.

- HULLÁR, I.; FEKETE, S.G.; MÉZES, M.; GLÁVITS, R.; GÁSPÁRDY, A.; FÉBEL, H. Effects of oral L-carnitine, L-lysine administration and exercise on body composition and histological and biochemical parameters in pigeons. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, p. 411-418, 2008.
- IJI, P.A.; SAKI, A.; TIVEY, R. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. I. Intestinal weight and mucosal development. **British Poultry Science**, v. 42, p. 505-513, 2001.
- JEPSON, M.M.; BATES, P.C.; BROADBENT, P.; PELL, J.M.; MILLWARD, D.J. Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, v. 255, p. 166-172, 1988.
- KHEIRI, F.; ALIBEYGHY, M. Effect of different levels of lysine and threonine on carcass characteristics, intestinal microflora and growth performance of broiler chicks. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, p. 580-587, 2017.
- KORNASIO, R.; HALEVY, O.; KEDAR, O.; UNI, Z. Effect of in ovo feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. **Poultry Science**, v. 90, p. 1467-1477, 2011.
- KROGDAHL, A.; SELL, J. Influence of age on lipase, amylase, and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. **Poultry Science**, v. 68, p. 1561-1568, 1989.
- LACEY, J.M.; WILMORE, D.W. Is glutamine a conditionally essential amino acid?. **Nutrition Review**, v. 48, p. 297-309, 1990.
- LEITÃO, R.A.; LEANDRO, N.S.M.; PEDROSO, A.A.; STRINGHINI, J.H.; OLIVEIRA NETO, G.R.; CAFÉ, M.B. Efeito da suplementação de glicose in ovo sobre o desempenho inicial de pintos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, p. 69, 2005.
- LIU, G.Q.; YANG, X.J.; ZONG, K.; XU, J. Dietary lysine affect carcass characteristics and myostatin gene exon 1 region methylation in muscle tissue of broilers. **Applied Mechanics and Materials**. v. 195-196, p. 334-341, 2012.
- MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2010.
- MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (eds.). **Fisiologia aviária**

aplicada a frangos de corte. 2^a ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 113-123, 2002.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia básica.** Rio de Janeiro: Elsevier do Brasil, 2008. 365p.

NABUURS, C.I.; CHOE, C.U.; VELTIEN, A.; KAN, H.E.; van LOON, L.J.; RODENBURG, R.J.; MATSCHKE, J.; WIERINGA, B.; KEMP, G.J.; ISBRANDT, D.; HEERSCHAP, A. Disturbed energy metabolism and muscular dystrophy caused by pure creatine deficiency are reversible by creatine intake. **The Journal of Physiology**, v. 591, p. 571-592, 2013.

NEWSHOLME, P.; PROCOPIO, J.; LIMA, M.M.R.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v. 21, p. 1-9, 2003.

NITSAN, Z.; BEN-AVRAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v. 32, p. 515-523, 1991.

NOY, Y.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chick. **Poultry Science**, v. 74, p. 366-373, 1995.

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

OHTA, Y.; TSUSHIMA, N.; KOIDE, K.; KIDD, M.T.; ISHIBASHI, T. Effects of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1493-1498, 1999.

OHTA, Y.; KIDD, M.T.; ISHIBASHI, T. Embryos 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.

OZAYDIN, T.; CELIK, I. Histological, histochemical and immunohistochemical investigations on the developing small intestines of broilers embryos. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 11, p. 2936-2944, 2012.

PADOVESE, R. Aplicações clínicas da glutamina. **Revista Brasileira de Ciência Farmacológica**, v. 36, p. 23-25, 2000.

PIERZYNOWSKI, S.G.; PIRDRA, V.J.L.; HOMMEL-HANSEN, T.; STUDZINSKI, T. Glutamine in gut metabolism. In: PIVA, A.; KNUDSEN, K.E.B.; LINDBERG, J.E. (eds). **Gut Environment of Pigs.** Nottingham: University Press, p. 43-62, 2001.

PILLAI, P.B.; FANATICO, A.C.; BEERS, K.W.; BLAIR, M.E.; EMMERT, J.L. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline and betaine. **Poultry Science**, v. 85, p. 90-95, 2006.

PIVA, A.; KNUDSEN, K.E.B.; LINDBERG, J.E. Glutamine in gut metabolism. In: PIVA, A.; KNUDSEN, K.E.B.; LINDBERG, J.E. (eds). **Gut Environment of Pigs**. Nottingham: University Press, 2001. 260p.

RAHARDJA, D.P.; HAKIM, A.R.; LESTARI, V.S. Application of in ovo injection of L-Glutamine for improving productivity of Indonesian native chicken: hatchability and hatching time. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 157, p. 012071, 2018.

RAY, E.C.; AVISSAR, N.E.; VUKCEVIC, D.; TOIA, L.; RYAN, C.K.; BERLANGA-ACOSTA, J.; SAX, H.C. Growth hormone and epidermal growth factor together enhance amino acid transport systems B and A in Remnant small intestine after massive enterectomy. **Journal of Surgical Research**, v. 115, n. 1, p. 164-170, 2003.

RUFINO, J.P.F.; CRUZ, F.G.G.; OLIVEIRA FILHO, P.A.; FARIAS, T.M.; MELO, L.D. **Bioteecnologias Aplicadas à Reprodução de Aves**. Manaus: EDUA, 2018. 131p.

SANTOS, T.T.; CORZO, A.; KIDD, M.T.; McDANIEL, C.D.; TORRES FILHO, R.A.; ARAÚJO, L.F. Influence of in ovo inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, p. 01-12, 2010.

SKLAN, D.; NOY, Y. Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1306-1310, 2000.

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

SKLAN, D.; GEYRA, A.; TAKO, E.; GAL-GABER, O.; UNI, Z. Ontogeny of brush border carbohydrate digestion and uptake in the chick. **British Journal of Nutrition**, v. 89, p. 747-753, 2003.

STADTMAN, E.R.; MOSKOVITZ, J.; BERLETT, B.S.; LEVINE, R.L. Cyclic oxidation and reduction of protein methionine residues is an important antioxidant mechanism. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 234, p. 3-9, 2002.

STIPANUK, M.H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine.

Annual Review of Nutrition, v. 24, p. 539-577, 2004.

STUBBS, A.K.; WHEELHOUSE, N.M.; LOMAX, M.A.; HAZLERIGG, D.G. Nutrient hormone interaction in ovine liver: methionine supply selectively modulates growth hormone induced IGF-1 gene expression. **Journal of Endocrinology**, v. 174, p. 335-341, 2002.

SZONDY, Z.; NEWSHOLME, E.A. The effect of glutamine concentration on the activity of carbomoyl-phosphate synthetase II and on the incorporation of [3H]thymidine into DNA in rat mesenteric lymphocytes stimulated by phytohaemagglutinin. **Biochemical Journal**, v. 261, p. 970-983, 1989.

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

TESSERAUD, S.; COUSTARD, S.M.; COLLIN, A.; SEILIEZ, I. Role of sulfur amino acids in controlling nutrient metabolism and cell functions: implications for nutrition. **British Journal of Nutrition**, v. 101, p. 1132-1139, 2009.

VASCONCELOS, M.I.L.; TIRAPEGUI, J. Importância nutricional da glutamina.

Arquivo Gastroenterologia, v. 35, p. 207-215, 1998.

VIEIRA, B.S.; FARIA FILHO, D.E.; TORRES, K.A.A; BORGES, D.M.; ROSA, P.S.; FURLAN, R.L. Administração in ovo de glutamina e de lisina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos na primeira semana pós-eclosão. **ARS VETERINARIA**, v. 22, 242-247, 2006.

UNI, Z.; FERKET, P.R. **Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding**. North Carolina State University and Yissum Research Development Company of the Hebrew University. US Patent n°. 6,592,878 B2, 2003a.

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre-and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v. 82, p. 320-327, 2003b.

UNI, Z.; TAKO, E.; GAL-GARBER, O.; SKLAN, D. Morphological, molecular, and functional changes in the chickens small intestine of the late-term embryo. **Poultry Science**, v. 82, p. 1747-1754, 2003c.

UNI, Z.; FERKET, P.R. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, 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, p. 764-770, 2005.

UNI, Z.; YADGARY, L.; YAIR, R. Nutritional limitations during poultry embryonic development. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, p. 175-184, 2012.

WELBORNE, T.C. Increased plasma bicarbonate and growth hormone after an oral glutamine load. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, p. 1058-1061, 1995.

WU, G. Interrelation ship among methionine, choline and betaine in channel catfish – *Ictalurus punctatus*. **Master of Science**, v. 15, p. 45, 2003.

WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. **Physiological Reviews**, v. 80, p. 1107-1213, 2000.

YANG, T.; ZHAO, M.; LI, J.; ZHANG, L.; JIANG, Y.; ZHOU, G.; GAO, F. In ovo feeding of creatine pyruvate alters energy metabolism in muscle of embryos and post-hatch broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 32, p. 834-841, 2019.

ZHANG, X.Y.; WAN, X.P.; MIAO, L.P.; ZOU, X.T.; DONG, X.Y. Effects of in ovo

feeding of l-arginine on hatchability, hatching time, early post hatch development, and carcass traits in domestic pigeons (*Columba livia*). **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 4462-4471, 2017.

ZHAO, M.M.; GAO, T.; ZHANG, L.; LI, J.L.; LV, P.A.; YU, L.L.; GAO, F.; ZHOU, G.H. Effects of in ovo feeding of creatine pyruvate on the hatchability, growth performance and energy status in embryos and broiler chickens. **Animal**, v. 11, p. 1689-1697, 2017.

ZHU, M.K.; ZHANG, X.Y.; DONG, X.Y.; ZOU, X.T. Effects of in ovo feeding of L-lysine on hatchability, hatching time, and early post-hatch development in domestic pigeons (*Columba livia*). **Poultry Science**, v. 0, p. 1-8, 2019.