



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

WILLYANE DE SOUZA SANTOS

**DESEMPENHO E CARACTÉRISTICAS DO TRATO DIGESTÓRIO DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS *IN OVO* COM TREONINA E GLUTAMINA**

AREIA

2023

WILLYANE DE SOUZA SANTOS

**DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DO TRATO DIGESTÓRIO DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS *IN OVO* COM TREONINA E GLUTAMINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho.

Coorientador: Prof. (a) Dr. (a) Patricia Emilia Naves Givisiez.

AREIA

2023

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

S237d Santos, Willyane de Souza.

Desempenho e características do trato digestório de frangos de corte suplementados in ovo com treonina e glutamina / Willyane de Souza Santos. - Areia:UFPB/CCA, 2023.

37 f. : il.

Orientação: Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho.

Coorientação: Patrícia Emília Naves Givisiez.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Aminoácidos. 3. Saúde intestinal.
4. Suplementação in ovo. I. Moreira Filho, Alexandre Lemos de Barros. II. Givisiez, Patrícia Emília Naves.
III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO**

TÍTULO: “DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS *IN OVO* COM TREONINA E GLUTAMINA”

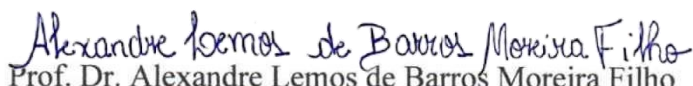
AUTORA: Willyane de Souza Santos

ORIENTADOR: Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho

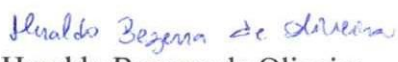
J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Examinador
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Heraldo Bezerra de Oliveira
Examinador
Centro Universitário Vale do Ipojuca

Areia, 03 de agosto de 2023.

A Deus por sempre me amparar.

A toda minha família.

*Em especial aos meus pais, José Damião
dos Santos e Maria Francisca de Souza.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, coragem de enfrentar as dificuldades, e por sempre estar comigo nos momentos mais difíceis. Gratidão Pai!

Aos meus pais e irmãos, fonte de toda inspiração, força e amor. Obrigada por compreenderem o motivo de minha ausência durante os anos em que estive distante, pelo apoio, motivação, incentivo, companheirismo e amizade, sempre se mostrando orgulhosos pelos passos trilhados no decorrer desta jornada e dentre outras infinitas coisas, amo vocês incondicionalmente.

À minha amada família, meus avós, tias (os), primas (os), que sempre me incentivaram a não desistir.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho, minha gratidão por aceitar a tarefa de me orientar, pela atenção, compreensão, conselhos e ensinamentos transmitidos durante o período do mestrado que serão lembrados para sempre com admiração. Muito obrigada por me ter corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar.

Aos meus co-orientadores, Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez e Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira pelo conhecimento compartilhado durante este trabalho.

Aos servidores Dr. Wydemberg Araújo e Dra. Juliana Nogueira do LAPOA - CCA/UFPB.

A Universidade Federal da Paraíba, em especial ao programa de pós-graduação em Zootecnia (PPGZ), professores e técnicos por toda contribuição durante o mestrado pela formação e oportunidade de realização deste curso.

À FAPESQ/PB (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba - Edital Universal Fapesq/PB nº 010/2021), pelo apoio financeiro para condução da pesquisa.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante o mestrado.

Ao grupo de estudos do LAPOA (Laboratório de produtos de Origem Animal), por ter sido a maior escola que tive, me ensinando a importância do compromisso, dedicação e que o bom trabalho gera bons frutos, em especial, Laiorayne Araújo, Alan Rocha, Gustavo Sales, Nádyra Jerônimo, Almy Carvalho, Maria Leticia, Elma. A todos que fazem parte, gratidão.

Ao grupo de pesquisa NEFA (Núcleo de estudos em Fisiologia Aviária), que me ajudaram e auxiliaram na condução dos experimentos e em várias outras atividades, seja no campo ou no laboratório, em especial, Daniela Gomes, Gilmária Marinho, Venício Sousa, Thalís José, Hemilly Marques, João Lucas, Álvaro Smith, Elyson Silva, estagiários e a todos os

envolvidos. Enfim, muito obrigada pela inestimável ajuda.

Aos amigos conquistados durante o período, obrigada pela paciência e convivência; aos amigos de mestrado e doutorado, pelos conhecimentos e experiências compartilhados, em especial, Guilherme Leite, Maria Leticia, Valéria Marinho, Girlene Cordeiro, Cícero Jorge, Adiel Lima, Cláudio Balbino, Almy Carvalho e tantas outras pessoas, por todo apoio, respeito, incentivos e por sempre me compreenderem nos momentos difíceis dessa caminhada. Eu admiro e sempre admirarei vocês. São mais que amigos, irmãos. Contem sempre comigo!

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos vocês....Muito Obrigado!

SANTOS, Willyane. S. **Desempenho e características do trato digestório de frangos de corte suplementados *in ovo* com treonina e glutamina**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPB, Areia-PB. Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho.

RESUMO

A presente pesquisa avaliou o efeito do fornecimento dos aminoácidos glutamina e treonina *in ovo* sobre o desempenho e morfologia intestinal de frangos de corte. Foram utilizados 480 ovos obtidos de incubatório comercial, provenientes de matrizes da linhagem CobbMale com 33 semanas de idade, distribuídos em quatro tratamentos, correspondentes a quatro soluções suplementadas *in ovo* (S1 = solução salina; S2 = solução de treonina 3,5%; S3 = solução de glutamina 3,5% e S4 = solução treonina + glutamina 3,5%). Após a eclosão, os pintainhos foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições de 10 animais cada. Foram avaliados o desempenho produtivo, comprimento do intestino delgado, peso relativo dos órgãos e a morfometria do jejuno. Não houve diferença significativa para o consumo de ração e peso corporal aos 21 dias de idade. Aves suplementadas *in ovo* com a combinação de Gln + Thr apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar em relação aos demais tratamentos. O comprimento do intestino delgado, o peso de fígado e da moela não foram diferentes entre os tratamentos. O peso do intestino delgado foi maior para os animais suplementados com a combinação de Gln + Thr em relação aos animais inoculados com solução salina ou treonina. O peso do proventrículo foi maior para o tratamento com glutamina. O tratamento com a suplementação de glutamina apresentou a maior média para variável relação vilo:cripta (V:C). A associação glutamina + treonina e tratamento com treonina isolada promoveram incremento na variável área de vilosidade. Com base nos dados disponíveis, pode-se concluir que a suplementação *in ovo* de treonina associada à glutamina apresenta potencial para melhorar o desempenho, o desenvolvimento dos órgãos do sistema digestório e atuar de forma trófica sobre o desenvolvimento intestinal. No entanto, estudos adicionais são necessários para validar essas conclusões e aprofundar nosso conhecimento sobre os efeitos desses suplementos.

Palavras chave: aminoácidos; saúde intestinal; suplementação *in ovo*.

SANTOS, Willyane. S. **Performance and digestive tract characteristics of broilers supplemented *in ovo* with threonine and glutamine.** Dissertation (Master in Animal Science). Graduate Program in Animal Science, UFPB, Areia-PB. Advisor: Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho.

ABSTRACT

The present research evaluated the effect of supplying the amino acids glutamine and threonine *in ovo* on the performance and intestinal morphology of broiler chickens. 480 eggs obtained from a commercial hatchery, from Cobb Male breeders at 33 weeks of age, were distributed into four treatments, corresponding to four solutions supplemented *in ovo* (S1 = saline solution; S2 = 3.5% threonine solution; S3 = 3.5% glutamine solution and S4 = threonine + 3.5% glutamine solution). After hatching, the chicks were distributed in a completely randomized experimental design, with 4 replications of 10 animals each. Productive performance, small intestine length, relative organ weight and jejunum morphometry were evaluated. There was no significant difference for feed intake and body weight at 21 days of age. Birds supplemented *in ovo* with the combination of Gln + Thr showed greater weight gain and better feed conversion compared to the other treatments. Small intestine length, liver and gizzard weight were not different between treatments. Small intestine weight was greater for animals supplemented with the combination of Gln + Thr compared to animals inoculated with saline or threonine. The proventriculus weight was higher for glutamine treatment. Treatment with glutamine supplementation showed the highest mean for the variable villus: crypt ratio (V:C). The combination of glutamine + threonine and treatment with isolated threonine promoted an increase in the variable area of villi. Based on the available data, it can be concluded that *in ovo* supplementation of threonine associated with glutamine has the potential to improve performance, the development of organs of the digestive system and act trophically on intestinal development. However, additional studies are needed to validate these conclusions and deepen our understanding of the effects of these supplements.

Keywords: amino acids; gut health; *in ovo* supplementation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Descrição dos tratamentos experimentais	20
Tabela 2- Composição alimentar e nutricional das dietas formuladas para frangos de corte na fase pré - inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias).....	21
Tabela 3- Desempenho zootécnico de frangos de corte aos 21 dias de idade submetidos a inoculação <i>in ovo</i>	23
Tabela 4- Comprimento e peso relativo (%) do intestino delgado (PID), proventrículo (P), moela (M), fígado (F) e intestino grosso (IG) de pintainhos de corte aos 21 dias de idade submetidos a inoculação <i>in ovo</i>	24
Tabela 5- Morfometria do jejuno de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos a suplementação <i>in ovo</i>	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	Utilização de treonina na mucosa Intestinal	11
2.2	Utilização da glutamina na mucosa intestinal	13
2.3	Nutrição <i>in ovo</i>	16
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1	Local do experimento e delineamento experimental	19
3.2	Incubação e suplementação <i>in ovo</i>	19
3.3	Eclosão, instalações e dietas experimentais.....	20
3.4	Desempenho.....	21
3.5	Análise histológica.....	22
3.6	Peso relativo de órgãos do sistema Digestório	22
3.7	Análise estatística.....	23
4	RESULTADOS.....	23
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

As atuais linhagens de frangos de corte passaram e têm passado por intenso trabalho de melhoramento genético, o que tem garantido excelentes avanços nos ganhos produtivos e grande expansão do setor avícola no Brasil e no mundo. As mudanças promovidas pela evolução genética não afetaram apenas o crescimento dos animais no período pós-eclosão, o desenvolvimento embrionário dos pintainhos foi diretamente afetado, acarretando em embriões mais exigentes e metabolicamente mais ativos. Segundo Rosalen *et al.* (2020) os níveis nutricionais presentes no ovo podem ser deficientes para garantir o desenvolvimento embrionário para as novas linhagens, e novas alternativas são necessárias para promover o crescimento mais eficiente e, assim, melhorar o desenvolvimento e eclodibilidade.

A suplementação de nutrientes na fase pré-eclosão é estudada com o objetivo de otimizar o estado nutricional do embrião, além de gerar o contato de nutrientes com a mucosa intestinal antes mesmo da eclosão, o que melhora a capacidade de digestão do embrião. Dentre as várias estratégias nutricionais utilizadas no mercado de produção avícola, a técnica de nutrição *in ovo* tem sido foco em vários estudos, envolvendo a inoculação com diferentes soluções nutritivas, melhorando assim, o estado nutricional do embrião, e garantindo melhorias no desempenho produtivo, saúde intestinal e microbioma intestinal em aves pós-eclosão (SLAWINSKA *et al.*, 2016; MOREIRA FILHO *et al.*, 2018; SIWEK *et al.*, 2018; GIVISIEZ *et al.*, 2020).

Na técnica de nutrição *in ovo* vários nutrientes podem trazer efeitos positivos na qualidade do pintainho, incluindo aminoácidos que podem ser usados como fonte de nutrição para embriões. Na presente proposta, destacamos a utilização de dois aminoácidos funcionais, a treonina (Thr) e a glutamina (Gln), que possuem relação direta com a resposta imune intestinal. Entre as principais ações da Thr destaca-se a participação na síntese de mucina, importante glicoproteína componente do muco, o qual forma uma camada protetora no epitélio intestinal protegendo contra danos e patógenos (LINDEN *et al.*, 2008). A glutamina e o glutamato são fontes de energia para a rápida proliferação de enterócitos, sendo essenciais para a manutenção e integridade da mucosa gastrointestinal (YI *et al.*, 2005; FASINA *et al.*, 2010).

Em vários estudos, Uni e Ferket (2004) mostraram que a suplementação nutricional *in ovo* é benéfica para a manutenção dos estoques de glicogênio, garantindo melhor utilização de nutrientes em pintainhos, reduzindo as taxas de mortalidade e doenças esqueléticas, melhorando as respostas imunes, o desenvolvimento muscular e o ciclo de produção.

Segundo Toghiani *et al.* (2018), em seu estudo a suplementação de Thr *in ovo* resultou na diminuição da eclodibilidade dos ovos, e a quantidade de anticorpos aumentaram significativamente, aumentando também o peso do baço e da bolsa de Fabricius. Parâmetros bioquímicos também foram evidenciados nos estudos do autor, diminuindo triacilglicerol e aumento da concentração de glicose e albumina.

Rufino *et al.* (2019), em seu estudo sobre a suplementação de Glutamina *in ovo* apresentou resultados satisfatórios que não interferiram no peso e nem no desenvolvimento do trato gastrointestinal de pintos em fase de desenvolvimento, possuindo um papel fundamental na regulação do metabolismo sérico e nas funções imunológicas, tendo uma maior seguridade da eclosão dos ovos.

Estudos recentes demonstraram que a suplementação *in ovo* de glutamina elevou de maneira significativa as dimensões das microvilosidades na borda em escova e aumentou em 20% a concentração de células absortivas (REICHER *et al.*, 2022). Nabi *et al.* (2022) trabalharam com suplementação de treonina e arginina e observaram melhoras no comprimento das vilosidades no grupo de animais que foram suplementados com os dois aminoácidos.

Diante do exposto, o trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do fornecimento dos aminoácidos treonina e glutamina, tanto de maneira isolada quanto em conjunto, suplementados *in ovo* sobre o desempenho e morfologia intestinal de frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Utilização de treonina na mucosa Intestinal

A treonina (Thr) é um aminoácido essencial, sendo considerado o terceiro aminoácido limitante para frangos de corte em dietas compostas por milho e farelo de soja (CHEN *et al.*, 2017). No organismo animal, desempenha importantes funções, como modulação do metabolismo nutricional e homeostasia do intestino, atuando ainda como imprescindível precursor de outros aminoácidos não essenciais (TANG *et al.*, 2021).

No epitélio intestinal, a treonina é particularmente abundante, estando presente em mucosas, na composição do muco e enzimas digestivas, como também, é importante componente das imunoglobulinas A (SANDBERG; EMMANS; KYRIAZAKIS, 2007). A treonina da dieta é absorvida no intestino delgado, de maneira principal no compartimento ileal; grande parte da treonina absorvida fica retida no epitélio intestinal para uso local, não sendo direcionada para a circulação porta (CORZO *et al.*, 2007).

O transporte da treonina dietética no lúmen intestinal, assim como outros aminoácidos

livres, pode ocorrer de três formas: passivamente, por difusão simples não saturável ou através do carreador por difusão facilitada e não dependente de sódio; e de forma ativa pelo sistema dependente de sódio (HE; LI; WU, 2021).

Uma vez absorvida, a Thr é utilizada para a produção de proteínas inerentes ao intestino, e uma parcela de Thr permanece retida no lúmen primordialmente para a formação de mucinas (LEE *et al.*, 2007), cerca de 50% da treonina dietética. A mucina é uma glicoproteína altamente glicosilada que faz parte da composição do muco, substância que confere proteção à mucosa do trato gastrointestinal contra infecções provindas de bactérias patogênicas e danos teciduais (LINDEN *et al.*, 2008), e tem como função de manter a lubrificação da mucosa, diminuindo a ação mecânica do efeito abrasivo da dieta (BAURHOO *et al.*, 2009).

As células caliciformes intestinais sintetizam e secretam as mucinas, que estão amplamente distribuídas pelas vilosidades (DEBNATH *et al.*, 2020). De acordo com os mesmos autores, aves que consomem dieta rica em treonina apresentam maior altura e largura de vilosidade no jejuno, e maior profundidade das criptas, atribuindo esses fatores ao uso eficiente desse aminoácido no trato gastrointestinal. No geral, maior altura das vilosidades e menor profundidade de criptas são tidas como marcadores do funcionamento adequado do intestino delgado saudável (QAISRANI *et al.*, 2015).

Além do importante papel na síntese de mucinas, existem evidências de que a treonina pode afetar diretamente o sistema imunológico dos animais (LI *et al.*, 2007), por isso PEDROSO *et al.* (2006) afirmam que a treonina pode ser o primeiro aminoácido que limita a síntese de anticorpos de proteção da mucosa. A Thr tem importante papel no sistema de defesa do animal, pois é encontrada em altas concentrações na estrutura de anticorpos de mucosa (NOGUEIRA, 2006), principalmente nas imunoglobulinas (BORTOLUZZI *et al.*, 2018), que são produzidas nos linfócitos B e atuam contra antígenos específicos.

Dentre as imunoglobulinas presentes nas aves, destacam-se IgM, IgY e IgA, sendo IgA o principal anticorpo presente nas mucosas e IgY o principal anticorpo no soro, correspondendo a aproximadamente 75% (TIZZARD, 2002). A treonina se destaca principalmente por ser o principal componente das gamas-globulinas presentes no plasma sanguíneo (KIM *et al.*, 2006).

A partir da alimentação *in ovo*, Moreira Filho *et al.* (2018) testaram a suplementação de treonina sobre a resposta de pintos de corte, avaliando a morfologia intestinal e expressão de MUC2 e IgA na eclosão e pós-eclosão. Como resultado, observaram que a suplementação com treonina afetou as expressões relativas de MUC2 e IgA na eclosão e após dois dias de eclosão, ocorrendo aumento na expressão de MUC2, no entanto, não foi observado esse mesmo comportamento para a IgA. A expressão dos mesmos genes foram maiores com a

suplementação de treonina quando comparados ao grupo controle (sem suplementação).

Com o objetivo de avaliar os efeitos da alimentação *in ovo* com treonina sobre a expressão gênica do íleo e morfologia intestinal de frangos de corte entre 1 e 21 dias de idade, Moreira Filho *et al.* (2019) observaram que os níveis desse aminoácido incrementaram de maneira benéfica a altura das vilosidades e razão vilo:cripta no dia da eclosão e aos 21 dias de idade.

Contudo, a treonina desempenha um papel fundamental na saúde da mucosa intestinal de frangos de corte, contribuindo para a integridade da barreira intestinal, a produção de mucina e o funcionamento adequado do sistema imunológico das aves. A nutrição adequada que inclui a treonina é essencial para promover o bem-estar das aves e maximizar o desempenho na produção de frangos. Além da utilização da treonina, a glutamina é um aminoácido que desempenha um papel importante na saúde da mucosa intestinal, entre várias funções metabólicas e nutricionais em aves e outros animais.

2.2 Utilização da glutamina na mucosa intestinal

O crescimento da mucosa intestinal é um processo dinâmico que é influenciado não apenas por hormônios metabólicos (incluindo Insulina, IGF-1, Triiodotironina, Tiroxina) (RAY; JOHNSON, 2014), mas também por outros fatores relacionados à alimentação, como substâncias químicas e físicas dos nutrientes na mucosa intestinal (FARRÉ *et al.*, 2020). Substâncias que possuem efeito trófico sobre a mucosa intestinal, aumentam sua capacidade funcional (RAY; JOHNSON, 2014), e podem garantir melhor desempenho das aves devido à maior capacidade de digerir e absorver os nutrientes dos alimentos. Nesse sentido, a suplementação com glutamina surge como uma alternativa para melhorar o desenvolvimento da mucosa intestinal.

A glutamina é caracterizada particularmente como um aminoácido importante na manutenção da integridade das células epiteliais intestinais, servindo como fonte de energia e também como principal fonte fornecedora de nitrogênio para a síntese de purinas e pirimidinas nessas células de rápida proliferação (LOBLEY *et al.*, 2001).

Além de seu possível papel na redução da atrofia da mucosa intestinal, o metabolismo da glutamina também permite a formação de precursores, como o glutamato, que estão envolvidos na síntese de moléculas-chave durante o processo inflamatório, como a glutatona, que desempenha um papel importante no corpo como antioxidante (RUBIN *et al.*, 2007).

O intestino é o principal local de consumo de glutamina com altas concentrações de

glutaminase, enzima responsável pela hidrólise da glutamina a glutamato e amônia (NEWSHOLME *et al.*, 2003). Em situações especiais como estresse, estado hipercatabólico ou hipermetabólico ou durante jejum prolongado, os tecidos apresentam maior demanda por glutamina e a síntese tecidual pode não suprir essa demanda, levando à designação de aminoácido condicionalmente essencial (PIERZYNOWSKI *et al.*, 2001). Além disso, a glutamina é a principal fonte de nitrogênio para a síntese de purinas e pirimidinas, que são os elementos básicos dos nucleotídeos, que por sua vez são necessários para a proliferação das células da mucosa intestinal e dos linfócitos intraepiteliais (WANG *et al.*, 2007).

A glutamina pode também atuar como precursora da síntese de N-acetil-glucosamina e N-acetilgalactosamina, moléculas importantes na síntese da mucina, e glicoproteína que atua na manutenção da integridade da mucosa intestinal (KHAN *et al.*, 1999). Por ser o principal metabólito que nutre os enterócitos, estudos têm sido realizados utilizando a glutamina para melhorar o desenvolvimento da mucosa intestinal. Em situações de atrofia e reconstituição da mucosa intestinal após determinada lesão, a suplementação com glutamina pode melhorar o crescimento, reparação e função da mucosa intestinal (ZIEGLER *et al.*, 2003; FISCHER DA SILVA *et al.*, 2007).

Rhoads e Wu (2009) sugerem que a glutamina estimula a proliferação celular na mucosa intestinal por meio de mecanismos que envolvem a ativação da troca iônica Na^+/H^+ na membrana plasmática, levando à fosforilação de fatores de transcrição nuclear (Elk-1 e c-Jun). A glutamina, portanto, atua não apenas como nutriente, mas também como um sinal de crescimento para a célula intestinal.

A glutamina é um aminoácido não essencial que contribui para a redução do catabolismo proteico por fornecer carbono para a gliconeogênese (MAIORKA *et al.*, 2000). Além disso, a glutamina é um importante agente trófico, estimulando a renovação celular por meio da indução da enzima ODC (ornitina descarboxilase) e da produção de poliaminas importantes no processo de proliferação celular (MAIORKA *et al.*, 2000).

Vários estudos têm sido realizados para determinar os efeitos da suplementação de glutamina em parâmetros de desempenho, desenvolvimento intestinal e seu envolvimento em eventos dependentes de ativação do sistema imunológico (OAKLEY *et al.*, 2014).

Zhang *et al.* (2022) investigaram os efeitos da suplementação com glutamina (1%) ou alanina (1,22%) sobre a barreira mucosa e reação inflamatória do intestino de frangos de corte estimulados com doses de lipolissacarídeos (0 ou 500 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal). Como resultado, foi observado que a administração de polissacarídeos propiciou menor relação de altura das vilosidades e criptas das três porções do intestino delgado, no entanto, a glutamina reverteu

esses efeitos. A suplementação com glutamina também diminuiu o aumento da concentração de interleucina-6 e interleucina-1-beta, além do fator de necrose tumoral alfa circulante, que haviam sido induzidos pelos polissacarídeos. Essas citocinas pró e anti-inflamatórias são liberadas a partir da ativação de células do sistema imune inato (LI *et al.*, 2018).

Bartell e Batal (2007) avaliaram o desempenho, a morfologia intestinal e a resposta imune em frangos de corte recebendo dietas com 1% ou 4% de L-glutamina e demonstraram que a suplementação de 1% de glutamina aumentou o ganho de peso aos 21 dias de idade. Entretanto, a suplementação de glutamina a 4% melhorou significativamente o comprimento das vilosidades do duodeno e jejuno aos sete dias. Além disso, a produção de anticorpos (IgA) aumentou quando a glutamina foi adicionada à dieta (BARTELL; BATAL, 2007).

YI *et al.* (2005) avaliaram o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte com acesso à ração logo após a eclosão vs. período de jejum de 48 horas após a eclosão. Os autores verificaram que as aves alimentadas com ração suplementada com 1% de glutamina imediatamente após o alojamento apresentaram maior peso corporal, ganho de peso e eficiência alimentar durante as duas primeiras semanas de idade em comparação com demais tratamentos (jejum 48 horas após o nascimento; a jejum de 48 h seguido de acesso *ad libitum* a uma dieta de 1% de glutamina (Gln); acesso *ad libitum* a uma dieta comum; acesso a uma dieta de 1% Gln após o nascimento; alimentação com suplementação Oasis para filhotes recém-eclodidos e alimentação com suplementação Oasis com 1% de Gln nas primeiras 48 horas após o nascimento).

Em pesquisa com frangos de corte criados em sistema alternativo, Zavarize *et al.* (2011) relataram que a suplementação da ração com 1% de glutamina resultou em maior ganho de peso aos 7 dias de idade. No entanto, esse resultado não persistiu aos 21 e 42 dias de idade. Ao avaliar a morfometria intestinal aos 42 dias de idade, o autor também não observou melhor desenvolvimento da mucosa intestinal com a suplementação de glutamina.

A suplementação de nutrientes, incluindo a glutamina "*in ovo*", representa uma área de pesquisa importante na produção de aves de corte, visando melhorar a saúde e o desempenho das aves desde o estágio embrionário. No entanto, a aplicação prática dessas técnicas requer um entendimento detalhado das necessidades nutricionais das aves e uma abordagem cuidadosa. Dentre as várias estratégias nutricionais utilizadas no mercado de produção avícola, a técnica de nutrição *in ovo* tem sido foco em vários estudos, envolvendo a inoculação com diferentes soluções contendo nutrientes e substâncias exógenas visando o estabelecimento de fenótipos ao longo da vida, bem como no desempenho superior, imunidade e microbioma intestinal saudável em aves pós-eclosão (SIWEK *et al.*, 2018; SLAWINSKA *et al.*, 2016).

2.3 Nutrição *in ovo*

A nutrição e desenvolvimento de embriões das aves é dependente dos nutrientes presentes no ovo, sendo assim, todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento embrionário são depositados pela matriz durante o processo de formação do ovo. Segundo Uni e Ferket (2004), vários fatores podem limitar o desenvolvimento e a viabilidade embrionária, incluindo o desenvolvimento tecidual e o conteúdo de nutrientes das reservas embrionárias e a habilidade dos pintos de substituir os nutrientes do saco vitelino por nutrientes da dieta após a eclosão. Essas limitações podem ser amenizadas pelo manejo alimentar no incubatório, ou seja, alimentação precoce por meio de alimentos no líquido amniótico do embrião, que é conhecido como nutrição *in ovo*.

O método de "suplementação *in ovo*" ou também chamado de "suplementação precoce", além da sua suplementação para disponibilizar os nutrientes durante a incubação e/ou armazenamento podem atender algumas deficiências nutricionais, caso precisem ser mobilizadas em determinadas fases para que os embriões atinjam seu pleno potencial de crescimento (TAKO; FERKET; UNI, 2004). Isso traria possíveis ganhos de produção, principalmente nos primeiros dias de idade do animal, quando ocorre maior crescimento das aves (LEITÃO *et al.*, 2014).

A nutrição *in ovo* é uma técnica utilizada para fornecer aos pintinhos fontes de alimento adicionais durante o desenvolvimento embrionário, para corrigir possíveis desequilíbrios na composição de nutrientes do ovo, ou para fornecer nutrientes que afetam positivamente o desempenho do embrião e do pintinho (GUERREIRO *et al.*, 2016). Essa técnica envolve o fornecimento de nutrientes específicos para pintos ainda em desenvolvimento embrionário (ROSTAGNO *et al.*, 2010). A nutrição *in ovo* em frangos de corte representa uma abordagem inovadora e eficaz para melhorar o desenvolvimento e a saúde das aves desde os primeiros estágios de suas vidas. Assim, existe um grande número de nutrientes ou substâncias que podem ser utilizadas em soluções de alimentação *in ovo*, cada uma delas com uma finalidade específica que pode ser atendida com o uso individual ou combinado de substâncias. Dentre os principais nutrientes inoculados *in ovo* relatadas na literatura mais recente pode-se citar: os carboidratos (ex.: dextrina, maltose, sacarose e glicose), diversos aminoácidos, minerais, vitaminas (principalmente as que apresentam efeito antioxidante) e outras substâncias específicas, como exemplo do β -hidroxi- β -metil butirato, que é uma substância envolvida em muitos estudos relacionados a nutrição *in ovo* (Uni e Ferket 2004).

Para isso, a casca do ovo embrionário é perfurada e os nutrientes são inoculados no líquido amniótico por meio de seringa e agulha (LEITÃO *et al.*, 2014). No entanto, a inoculação pode ser realizada em outros locais do ovo, como a gema e no albúmen (OHTA; KIDD; ISHIBASHI, 2001).

Outra importância da nutrição *in ovo* é a estimulação precoce do desenvolvimento da mucosa do intestino delgado do animal, melhorando assim, a absorção dos nutrientes. Esse desenvolvimento intestinal ocorre devido à presença e ingestão de nutrientes inoculados nos ovos (LEITÃO *et al.*, 2014). Assim, melhorias no desenvolvimento da mucosa intestinal, por menores que sejam, já são um grande avanço para melhor aproveitamento da dieta pós-eclosão e, consequentemente, maiores ganhos de produção (CHELED-SHOVAL *et al.*, 2011).

O sistema gastrointestinal se desenvolve durante todo o período de incubação, mas sua função só se desenvolve a partir do 15º dia de incubação, quando o embrião inicia o consumo do líquido amniótico oral. O desenvolvimento máximo do intestino ocorre por volta do 17º dias de incubação, e a razão entre o peso do intestino e o peso do embrião aumentou de aproximadamente 1% aos 17 dias para 3,5% na eclosão (UNI *et al.*, 2005).

Segundo Campos *etal.* (2011), a ingestão de líquido amniótico ocorre entre os dias 15º e 19º dia da incubação, criando possibilidades de ingestão de nutrientes exógenos bem antes do nascimento. Embora a ingestão do líquido amniótico comece no 15º dia de incubação, a inoculação dos nutrientes *in ovo* deve ser realizado por volta do 17º, 18º ou 19º dia de incubação, quando os embriões apresentam maior desenvolvimento intestinal (CAMPOS; GOMES; ROSTAGNO, 2010).

Salmanzadeh *et al.* (2016) relataram que animais oriundos de ovos injetados com glutamina *in ovo* apresentaram maior peso corporal e melhor conversão alimentar, maior altura e largura das vilosidades e menor profundidade de cripta, sugerindo que a suplementação com glutamina propiciou maior assimilação dos nutrientes e maior desenvolvimento jejunal.

Rufino *et al.* (2019), avaliando cinco diferentes soluções contendo L-glutamina (0%, 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2% e 2,5%) através da alimentação *in ovo* em embrião de pintos de corte, observaram que, após a eclosão, pintos de embriões alimentados com esse aminoácido apresentaram maior pH sanguíneo e redução dos demais parâmetros séricos, podendo ter ocasionado maior desenvolvimento embrionário e de órgãos vitais, como o pâncreas, fígado e coração, pela maior disponibilidade desse nutriente para o embrião. Foi observada também maior taxa de eclodibilidade para o grupo 0,5% de L-glutamina, com menor mortalidade tardia e, embora não tenha havido diferença significativa entre os tratamentos para o desenvolvimento do trato gastrointestinal, percebeu-se um incremento de vários órgãos (orofaringe + esôfago,

alça duodenal, jejuno + íleo, ceco, cólon + reto) de embriões alimentados *in ovo*.

A glutamina através da suplementação *in ovo* também foi utilizada em estudo de Reicher *et al.* (2022) com o objetivo de incrementar o desenvolvimento intestinal de embriões de pintainhos a partir da proliferação e diferenciação de células epiteliais, sendo observado aumento da contagem destas na pós-eclosão, bem como das criptas e vilosidades.

Além disso, o tratamento com a suplementação de glutamina ocasionou o aumento de 36% de células progenitoras e o crescimento da região diferenciada PepT1+ (transportador de peptídeos) das vilosidades em 1,9 vezes, concluindo que este aminoácido impulsionou a maturação e funcionalidade do intestino delgado dos animais durante as primeiras horas de idade, propiciando uma poderosa proliferação e diferenciação de células na superfície absorviva.

Durante o período crítico transitório da fase embrionária para a pós-eclosão, a nutrição *in ovo* pode incrementar o desenvolvimento intestinal, aumentando a capacidade de utilização de nutrientes além de melhorar a funcionalidade desse compartimento, e a glutamina é um importante aminoácido que pode atuar no aumento da absorção através do impacto sobre o epitélio intestinal.

Em um estudo recente, Eisa *et al.* (2022) observaram que a suplementação *in ovo* de L-treonina teve efeito positivo na taxa de conversão alimentar e no consumo de ração de frangos de corte em comparação com os grupos inoculados com solução salina e controle (sem suplementação). Observaram, ainda, que a suplementação de Thr aumentou o peso relativo do baço e do timo em comparação ao grupo controle não suplementado e melhorou a histomorfologia intestinal. Os autores concluem que a suplementação de treonina *in ovo* pode melhorar o desempenho de crescimento de frangos de corte e a morfologia intestinal, manifestada por uma maior relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, além de melhorar a imunidade, mediada pelo desenvolvimento de órgãos imunes.

Embora esta seja uma técnica recente e em desenvolvimento, existe uma forte possibilidade de que se torne uma prática promissora nos próximos anos para melhorar a eficiência da produtividade avícola. Os resultados expressivos desta técnica dependem da escolha correta dos nutrientes disponíveis para o metabolismo do embrião. A nutrição *in ovo* continua a ser uma área de pesquisa em crescimento, à medida que a indústria avícola busca maneiras de melhorar a produção de frangos de corte de forma eficiente e sustentável. A pesquisa nesse campo tem implicações importantes para a segurança alimentar e a produção de alimentos em todo o mundo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Avicultura pertencente ao Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), na cidade de Bananeiras - PB. Todas as práticas de manejo, bem como abate e procedimentos de amostragem da presente pesquisa, foram submetidas para aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB), número de protocolo nº5726210721.

3.2 Incubação e suplementação *in ovo*

Foram utilizados 480 ovos obtidos de incubatório comercial localizado na região de Riacho das Almas - PE, provenientes de matrizes da linhagem CobbMale com 33 semanas de idade.

Os ovos foram distribuídos em quatro tratamentos, sendo 120 ovos por tratamento: solução salina 0,9% – tratamento controle; solução de treonina 3,5%; solução de glutamina 3,5%; e solução treonina + glutamina 3,5%. O nível utilizado foi baseado em estudos anteriores desenvolvidos pela equipe, onde se obteve resultados positivos, quando comparados com outros níveis utilizados. Em seguida, os ovos foram distribuídos em três incubadoras artificiais (IP130, incubadoras Premium Ecológica Ltda), com controle de temperatura e viragem automática. Os ovos foram mantidos em condições normais de incubação com temperatura de 37,7°C e umidade relativa de 60% com viragem a cada hora até 17,5 dias de incubação. No décimo primeiro dia de incubação (DE11), foi realizada a ovoscopia com o objetivo de descartar os ovos inférteis, com embriões mortos ou que apresentaram qualquer problema que pudesse prejudicar o processo de desenvolvimento embrionário dos outros ovos durante a incubação. A suplementação *in ovo* foi realizada no 17,5 dias de desenvolvimento embrionário (17,5DE) de acordo com a metodologia descrita por Uni e Ferket (2003).

Neste processo, todos os ovos passaram por uma higienização com solução de etanol a 70% e perfurados na região da câmara de ar para a deposição do inóculo. As soluções testadas foram desenvolvidas tendo como base solução salina 0,9%, na qual foi incluído cada um dos componentes nutricionais na dosagem necessária para se obter no final a concentração desejada, descrito na (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais.

Tratamento	Composição
Salina (controle)	Cloreto de sódio – 0,9%
L- Glutamina P. A	7 g de L- Glutamina – 3,5%
L- Treonina P. A	7 g de L- Treonina – 3,5%
L- Gln + L- Thr	7 g de Gln + 7 g de Thr – 3,5%

As soluções para inoculação (0,6 mL) foram aquecidas a 30°C e depositadas no líquido amniótico utilizando-se seringas de 1 mL e agulha estéreis de 21 G, direcionando assim, a agulha para a casca e procurando evitar que o embrião fosse atingido. Após a suplementação, o orifício perfurado na casca do ovo foi vedado com fita de micropore e em seguida, os ovos foram devolvidos para o nascedouro e mantidos à temperatura de 36,7°C. Todo o procedimento ocorreu em sala higienizada com temperatura média de 30°C.

3.3 Eclosão, instalações e dietas experimentais

Após a eclosão, 160 aves foram transportadas até o galpão experimental, e alojadas em boxes com dimensões de 1,0 x 0,8 m, coberto por cama de maravalha, telado e equipados com bebedouros, comedouros tubulares e lâmpadas de 60W para aquecimento. Foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições de 10 animais cada. As aves foram alimentadas com ração e água à vontade durante todo o período experimental e o programa de luz adotado foi de 24 horas diárias com luz natural e artificial.

Todas as aves receberam a mesma dieta, formulada à base de milho e farelo de soja para as fases pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias) seguindo as recomendações mínimas de Rostagno *et al.* (2017), representado na (Tabela 2).

Tabela 2. Composição alimentar e nutricional das dietas formuladas para frangos de corte na fase pré - inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias).

Ingredientes	Fase	
	1 a 7	8 a 21
	%	
Milho Grão	61,932	64,631
Farelo de Soja	29,679	27,604
Farinha de Carne e ossos	5,948	5,496
Óleo de soja	-	0,643
DL-Metionina	0,387	0,275
L-Lisina	0,379	0,229
Calcário calcífico	0,373	0,273
Premix vitamínico – mineral ²	0,300	0,300
Bicarbonato de sódio	0,297	0,289
Fosfato bicálcico	0,295	-
Sal comum	0,215	0,179
L-Treonina	0,170	0,077
L-Triptofano	0,020	-
Total	100,000	100,000

¹Recomendações nutricionais segundo Rostagno et al. (2017); ²Suplementação vitamínica e mineral :Vit A 3.600,00 UI, Vit D3 1.000,00 UI, Vit E 8,00 UI, Vit K3 1,00 mg, Vit B1 0,80 mg, Vit B2 2,40 mg, Ácido pantotênico 4,80 mg, Vit B6 1,20 mg, Vit B12: 6,00 mcg, Ácido nicotínico 0,014 g, Ácido fólico: 0,60 mg, Biotina 0,040 mg, Colina 0,087 g, Ferro 0,016 g, Cobre 3,33 mg, Manganês 0,021 g, Zinco 0,021 g, Iodo 0,33 mg, Selênio 0,10 mg, Enramicina 3,33 mg, Salinomicina sódica 0,022 g.

3.4 Desempenho

As variáveis de desempenho avaliadas foram: ganho de peso (g/ave), consumo de ração (g/ave), conversão alimentar (g ração consumida/g ganho de peso). Para isso, os frangos foram pesados no início e no final do período experimental para determinar o ganho de peso. O consumo de ração foi calculado como a diferença entre o total de ração fornecida e as sobras. Com base no consumo de ração e no ganho de peso, foi calculada a conversão alimentar.

3.5 Análise histológica

Aos 21 dias de idade, quatro animais por tratamentos foram eutanasiados de acordo com as recomendações da Resolução nº57/2011/CONCEA, seguido pela coleta de amostras com aproximadamente 2 cm da porção medial do jejuno. Para análise histológica, as amostras de porção do jejuno foram desidratadas em série crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Em seguida, foi realizada microtomia semi-seriada e os cortes colocados em lâminas, as quais foram coradas com hematoxilina (HE) e Alcian Blue e analisadas em microscopia de luz.

O estudo morfométrico foi realizado utilizando-se o sistema analisador de imagens Image J 153. As variáveis estudadas foram: altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação vilosidade:cripta e área de vilosidade. A altura de vilosidade foi determinada do ápice até a sua região basal que coincide com a superfície da cripta até seu ápice; a profundidade de cripta foi medida a partir da região de transição vilosidade cripta até sua base. A partir dos resultados obtidos para altura de vilosidade e profundidade de cripta, foi realizado o cálculo da relação vilosidade:cripta. A área da vilosidade foi calculada de acordo com a equação descrita por Solis de Los Santos *et al.* (2005): $((LA+LB)/(AV*2))$. Para cada animal foram realizadas 10 mensurações, totalizando 40 mensurações por tratamento e para cada variável estudada foi retirada a média das leituras por variável e por animal.

3.6 Peso relativo de órgãos do sistema Digestório

Foi calculado o comprimento e pesagem do intestino delgado, bem como o peso dos órgãos proventrículo, moela, fígado e intestino grosso em relação ao peso vivo do animal (comprimento e peso relativo) de cada tratamento.

Cálculo da variável:

$$\text{- Peso relativo do órgão (g/100g)} = \frac{\text{Peso do órgão} \times 100}{\text{Peso Vivo}}$$

$$\text{- Comprimento relativo do órgão (cm/100g)} = \frac{\text{Comprimento do órgão} \times 100}{\text{Peso Vivo}}$$

Após as mensurações, da porção do jejuno foi realizado cortes em forma de anel, e colocadas em frascos de formol 10% identificados, sendo destinados a análise histológica.

3.7 Análise estatística

Os dados foram avaliados em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (Solução salina 0,9% – tratamento controle; solução de treonina 3,5%; solução de glutamina 3,5%; e solução treonina + glutamina 3,5%). Os dados foram submetidos à análise de variância e interpretados pelo teste de pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar (versão 5.6, 2006).

4. RESULTADOS

Não houve diferença significativa para o consumo de ração e peso corporal ($p > 0,05$), no entanto, observou-se diferença para as demais variáveis ($p < 0,05$). Aves suplementadas *in ovo* com a combinação de Gln + Thr tiveram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Desempenho zootécnico de frangos de corte aos 21 dias de idade submetidos a suplementação *in ovo*.

Tratamento	Consumo de ração (kg)	Ganho de peso (g)	Conversão Alimentar	Peso Corporal (g)
Salina (controle)	635,065	374,916 _b	1,69 _a	843,435
Glutamina	626,222	359,678 _b	1,66 _{ab}	824,647
Treonina	628,000	368,579 _b	1,70 _a	829,407
Glutamina + Treonina	629,852	425,604 _a	1,48 _b	836,012
Média geral	629,785	382,194	1,63	833,375
EPM	10,934	9,191	0,044	10,848
P – Valor	0,9454	0,0012	0,0124	0,6473

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$); (EPM) = Erro padrão da média.

O comprimento do intestino delgado (CID), o peso de fígado e da moela não apresentaram diferenças entre os tratamentos. O peso do intestino delgado foi maior ($p < 0,05$) para os animais submetidos à suplementação com combinação de Gln + Thr em relação aos animais suplementados com solução salina ou treonina. O peso do proventrículo foi maior para o tratamento com Gln em relação ao tratamento com treonina. O intestino

delgado (IG) foi maior nos animais suplementados com solução salina em relação ao tratamento com treonina ou glutamina isolados, mas não diferiu do tratamento com ambos os aminoácidos (Tabela 4).

Tabela 4. Comprimento e peso relativo (%) do intestino delgado (PID), proventrículo (P), moela (M), fígado (F) e intestino grosso (IG) de pintainhos de corte aos 21 dias de idade submetidos a suplementação *in ovo*.

Tratamento	Peso relativo (%)					
	CID	PID	P	M	F	IG
Salina (controle)	14,37	3,31 _b	0,51 _{ab}	3,47	2,31	0,64 _c
Glutamina	14,55	3,54 _{ab}	0,55 _a	3,28	2,48	0,71 _{ab}
Treonina	15,34	3,03 _c	0,49 _b	3,21	2,26	0,75 _a
Glutamina + Treonina	15,48	3,69 _a	0,52 _{ab}	3,56	2,47	0,64 _{bc}
Média geral	14,93	3,39	0,52	3,38	2,38	0,68
EPM	0,541	0,063	0,011	0,134	0,102	0,018
P – Valor	0,4014	0,0001	0,0084	0,2626	0,3665	0,0022

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$); (CID) = Comprimento do intestino delgado; (PID) = peso do intestino delgado; (P) = proventrículo; (M) = Moela; (F) = Fígado; (IG) = Intestino grosso; (EPM) = Erro padrão da média.

Não houve diferença significativa para a altura das vilosidades ($p > 0,05$). A profundidade das criptas diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo a média inferior nos animais que receberam suplementação com glutamina, não havendo diferença para os demais tratamentos (solução salina, treonina e glutamina + treonina).

O tratamento com a suplementação de glutamina apresentou a maior média ($p < 0,05$) em relação a variável de vilo:cripta (V:C), diferindo assim entre os demais tratamentos analisados. O tratamento com associação de glutamina + treonina apresentou maior ($p < 0,05$) média para variável área de vilosidade entre os tratamentos estudados, sendo semelhante, ao tratamento com suplementação de treonina isolada (Tabela 5).

Tabela 5. Morfometria do jejuno de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos a suplementação *in ovo*.

Tratamento	Altura de vilosidades (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Relação vilo: cripta (μm)	Área de vilosidade (μm)
Salina (controle)	988,19	80,007 ^a	13,51 ^b	98081,681 ^c
Glutamina	1022,59	64,289 ^b	17,25 ^a	105785,766 ^{bc}
Treonina	987,97	77,984 ^a	13,40 ^b	124865,859 ^{ab}
Glutamina + Treonina	982,89	78,883 ^a	13,30 ^b	131558,088 ^a
Média geral	995,412	75,290	14,370	115072,84
EPM	22,337	3,227	0,851	5112,99
P – Valor	0,5760	0,0042	0,0047	0,0001

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). (EPM) = Erro padrão da média.

5. DISCUSSÃO

A partir dos dados apresentados foi possível observar que a suplementação de aminoácidos *in ovo* foi capaz de interferir no desempenho zootécnico, no desenvolvimento e crescimento dos órgãos do sistema digestório e na morfologia da mucosa jejunal. De maneira geral, a suplementação da glutamina de maneira isolada e suplementação de glutamina associada a treonina apresentaram maior influência sobre as variáveis estudadas.

O melhor desempenho zootécnico promovido pela suplementação de glutamina e glutamina + treonina pode estar associado ao estímulo do desenvolvimento intestinal com aceleração do crescimento e ganho de peso dos animais devido à maior capacidade de digerir e absorver nutrientes no período pós-eclosão (BHANJA; MANDAL, 2005; GAAFARBR; SELIM; ELBALLAL, 2013). O período que se dá o desenvolvimento do embrião, bem como a imediata fase pós-eclosão corresponde a 50% da vida produtiva do animal (UNI; YADGARY; YAIR, 2012). Em condições comerciais, o acesso tardio (36-72 horas) à alimentação após a eclosão pode ocasionar atraso no desenvolvimento e maturação do TGI, estando diretamente interligada a saúde do intestino à alimentação e ao ambiente em que o animal se encontra (TAHA-ABDELAZIZ *et al.*, 2018; SHEHATA *et al.*, 2021). O neonato

passa por rápidas modificações no que diz respeito ao desenvolvimento intestinal e sistema imune (TONG *et al.*, 2013) e o atraso na alimentação pós-eclosão dos pintainhos acaba por afetar negativamente a imunidade e desenvolvimento dos mesmos (BHUIYAN *et al.*, 2011; WILLEMSSEN *et al.*, 2010). Em vista disso, o fornecimento de nutrientes através da suplementação *in ovo*, no decorrer do desenvolvimento do embrião, minimiza consideravelmente os efeitos desfavoráveis do jejum, incrementando o desempenho pós-eclosão das aves (NABI *et al.*, 2022).

A suplementação *in ovo* com aminoácidos na fase embrionária pode impactar de forma direta sobre a formação dos sistemas e órgãos do embrião (KPODO; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, 2023). A suplementação de nutrientes no âmion prepara previamente os pintainhos para o consumo desses elementos, a fim de desenvolverem a capacidade de digestão e absorção na pré-eclosão (TAHMASEBI; TOGHYANI, 2016), sendo o período do 17º dia de incubação o mais utilizado em estudos com intuito de melhoria da morfologia intestinal (MOREIRA FILHO *et al.*, 2019; REICHER *et al.*, 2022).

De fato, no presente estudo a suplementação *in ovo* de glutamina e glutamina + treonina promoveu maior incremento no desenvolvimento dos órgãos do sistema digestório e na morfologia intestinal. O ácido glutâmico e a glutamina são considerados os principais aminoácidos de fonte energética para uso pelas células de rápida proliferação, como os enterócitos, através do transporte pelo lúmen, em que sofre transaminação e produz alfa-cetoglutarato, produzindo energia pelo ciclo do ácido cítrico (BURRIN; STOLL, 2009; BLACHIER *et al.*, 2009). De acordo com os mesmos autores, o ácido glutâmico é precursor a glutamina, dentre outros aminoácidos não essenciais.

Ademais, a glutamina desempenha função imprescindível na manutenção da estrutura da mucosa, integridade da barreira do epitélio contra ataques de agentes patógenos, sistema imune e produção de mucinas, sendo um componente essencial em condições desafiadoras, embora não seja considerado um aminoácido essencial (NEWSHOLME, 2001; WU *et al.*, 2011; BARTELL; BATALL, 2007).

No que se refere a treonina, seu papel é tido como vital para a produção de imunoglobulinas e proteínas da mucosa do intestino delgado, e sua redução está associada ao decréscimo da síntese de mucina, inibição da diferenciação celular das caliciformes, culminando em efeito prejudicial da função da barreira intestinal de frangos de corte (CHEE *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2016). Sendo assim, a deficiência de treonina pode potencializar respostas inflamatórias e piorar o desempenho da barreira intestinal (ZHANG *et al.*, 2016). Moreira Filho *et al.* (2019) relataram maior altura e área de vilosidades, bem com maior

relação vilo:cripta jejunais em pintos de 21 dias de idade recebendo níveis crescentes de treonina a partir da suplementação *in ovo*. Em estudo de Gehad *et al.* (2022) também foi observado o mesmo comportamento no jejuno de pintos suplementados *in ovo* com L-treonina, ou seja, o aminoácido ocasionou melhoria da morfologia intestinal.

Nabi *et al.* (2022) observaram maior peso do fígado, moela e intestino para o tratamento com combinação dos aminoácidos glutamina + treonina na suplementação *in ovo* de frangos de corte com seis semanas de idade. Alabi *et al.* (2020) também avaliando a suplementação *in ovo* de Thr em frangos aos 21 dias de idade sobre os órgãos de moela, fígado e intestino, relataram que apenas este último apresentou diferença significativa, com maior média para a dose de 45 mg/ovo de Thr (107,70 g/kg PC), seguida pela dose de 15 e 30 mg/ovo, com médias de 102,84 g/kg PC e 97,08 g/kg PC, respectivamente.

Os maiores pesos relativos dos órgãos relacionados à digestão podem estar interligados ao maior ganho de peso e incremento do desempenho de crescimento no decorrer da fase inicial de vida do animal (ALABI *et al.*, 2020). De acordo com Jha *et al.* (2019) e Kadam *et al.* (2008), a Thr tem função crucial sobre o desenvolvimento funcional dos órgãos digestivos e imunológicos, bem como na produção de enzimas digestivas e mucosas e melhoria da saúde do intestino.

Para Xue *et al.* (2018) e Oxford *et al.* (2019), a suplementação com glutamina tem a capacidade de melhoria da morfologia intestinal, ocasionando elevação da altura das vilosidades e redução da profundidade das criptas, incrementando o processo de absorção dos nutrientes. A utilização da glutamina como fonte energética pelos enterócitos para sua maturação, o processo de suplementação na incubação pode ter ativado a mitose celular, influenciando consequentemente em maior altura das vilosidades e por sua vez, maior área de superfície para utilização dos nutrientes, refletindo em maior eficiência alimentar (BARTELL; BATAL, 2007; ABDULKARIMI *et al.*, 2019). A elevação da altura das vilosidades indica um aumento da quantidade de células do epitélio, levando a um benéfico crescimento de frangos de corte (GEYRA *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2020).

É possível que a combinação treonina + glutamina tenha potencializado ação trófica desses dois aminoácidos sobre o desenvolvimento intestinal, promovendo assim um incremento maior no desenvolvimento da mucosa em comparação aos aminoácidos na forma isolada. Ademais, é possível a suplementação *in ovo* tenha promovido alterações metabólicas no embrião na fase final da incubação, pois segundo Uni e Ferket (2004), a gliconeogênese, a partir do catabolismo proteico, provavelmente constitui a única fonte de glicose para o

embrião durante o processo de eclosão.

O músculo peitoral constitui a principal fonte de aminoácidos, que irá fornecer intermediários para o processo de gliconeogênese (Lu *et al.*, 2007). Como consequência do aumento do catabolismo proteico, o crescimento e o desenvolvimento do pintainho são afetados de forma negativa, levando à redução do peso corporal (Uni & Ferket, 2004). De acordo com Moreira Filho *et al.* (2018), é possível que o fornecimento de aminoácidos *in ovo* reduza a depleção da proteína muscular e, como consequência, promova melhorias no desempenho produtivo. Kadam *et al.* (2013) afirmam que a suplementação de treonina *in ovo* reduz a mobilização de proteína muscular e favorece a síntese proteica.

6. CONCLUSÃO

Com base nos dados disponíveis, pode-se concluir que a suplementação *in ovo* de treonina associada à glutamina apresenta potencial para melhorar o desempenho, o desenvolvimento dos órgãos do sistema digestório e atuar de forma trófica sobre o desenvolvimento intestinal. No entanto, estudos adicionais são necessários para validar essas conclusões e aprofundar nosso conhecimento sobre os efeitos desses suplementos.

REFERÊNCIAS

- ALABI, J. O.; BHANJA, S. K.; FAFIOLU, A. O.; OLUWATOSIN, O. O.; ONAGBESAN, O. M.; MEHRA, M.; GOEL, A. Influence of in ovo threonine on growth performance, immunocompetence and carcass characteristics in broiler chickens. **The Indian Journal of Animal Sciences**, v. 90, n. 12, p. 1628–1637, 28 jul. 2021. Disponível em: <<https://epubs.icar.org.in/index.php/IJAnS/article/view/113199>>.
- ABDULKARIMI, R.; SHAHIR, M. H.; DANESHYAR, M. Effects of dietary glutamine and arginine supplementation on performance, intestinal morphology and ascites mortality in broiler chickens reared under cold environment. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 110–117, 1 jan. 2019. Disponível em: <<http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.17.0150>>.
- AWACHAT, V.; V. E. a. Influence of perinatal amino acid supplementation on hatchability, gastro-intestinal tract development and growth performance of broiler chicks. 2017.
- BAKYARAJ, SANNIYASI, SUBRAT K BHANJA, SAMIR MAJUMDAR, B. D. Modulation of post-hatch growth and immunity through in ovo supplemented nutrients in broiler chickens. **Journal science of food and agriculture**, v. 92, n. 2, p. 313–320, 2012.
- BARTELL, S. M.; BATAL, A. B. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 9, p. 1940–1947, set. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003257911939220X>>.
- BHANJA, S. K.; MANDAL, A. B. Effect of In ovo Injection of Critical Amino Acids on Pre- and Post-hatch Growth, Immunocompetence and Development of Digestive Organs in Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 18, n. 4, p. 524–531, 20 abr. 2005. Disponível em: <<http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2005.524>>.
- BHANJA, S. K.; MANDAL, A. K. Modulation of post hatch-growth and immunocompetence through in ovo injection of limiting amino acids in broiler chickens. 2012.
- BHUIYAN, M. M.; GAO, F.; CHEE, S. H.; IJI, P. A. Minimising weight loss in new broiler hatchlings through early feeding of simple sugars. **Animal Production Science**, v. 51, n. 11, p. 1002, 2011. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN11055>>.
- BLACHIER, F.; BOUTRY, C.; BOS, C.; TOMÉ, D. Metabolism and functions of l-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 814S–821S, set. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000291652326517X>>.
- BAURHOO, B.; GOLDFLUS, F.; ZHAO, X. Purified Cell Wall of *Saccharomyces cerevisiae* Increases Protection Against Intestinal Pathogens in Broiler Chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 2, p. 133–137, 15 jan. 2009. Disponível em: <<https://www.scialert.net/abstract/?doi=ijps.2009.133.137>>.
- BORTOLUZZI, C.; ROCHELL, S. J.; APPLEGATE, T. J. Threonine, arginine, and glutamine: Influences on intestinal physiology, immunology, and microbiology in broilers. **Poultry**

Science, v. 97, n. 3, p. 937–945, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex394>>.

BURRIN, D. G.; STOLL, B. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 850S–856S, set. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916523264953>>.

CAMPOS, A. M. de A.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S. Nutrição in ovo de frangos de corte. **NUTRITIME**, v. 7, n. 4, p. 1304–1313, 2010.

CAMPOS, A. M. de A.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; SILVA, E. A. da; ALBINO, L. F. T.; NOGUEIRA, E. T. Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1712–1717, ago. 2011.

CHELED-SHOVAL, S. L.; AMIT-ROMACH, E.; BARBAKOV, M.; UNI, Z. The effect of in ovo administration of mannan oligosaccharide on small intestine development during the pre- and posthatch periods in chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 10, p. 2301–2310, out. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.2011-01488>>.

CHEE, S. H.; IJI, P. A.; CHOCT, M.; MIKKELSEN, L. L.; KOCHER, A. Functional interactions of manno-oligosaccharides with dietary threonine in chicken gastrointestinal tract. I. Growth performance and mucin dynamics. **British Poultry Science**, v. 51, n. 5, p. 658–666, out. 2010. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00071668.2010.517251>>.

CHEN, Y. P.; CHENG, Y. F.; LI, X. H.; YANG, W. L.; WEN, C.; ZHUANG, S.; ZHOU, Y. M.; AL, C. E. T. Effects of threonine supplementation on the growth performance, immunity, oxidative status, intestinal integrity, and barrier function of broilers at the early age. **Poultry Science**, v. 96, n. 2, p. 405–413, 2017.

CORZO, A.; KIDD, M. T.; DOZIER, W. A.; PHARR, G. T.; KOUTSOS, E. A. Dietary Threonine Needs for Growth and Immunity of Broilers Raised Under Different Litter Conditions. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 574–582, dez. 2007.

DEBNATH, B. C.; BISWAS, P.; ROY, B.; CHATTERJEE, P. N. Threonine supplementation on gut histomorphometry and mucin biology of broilers. **Indian Journal of Animal Health**, v. 59, n. 2–Spl, p. 206–209, dez. 2020.

EISA, G. E.; ABDEL FATAH, S.; ABDELLATIF, H. A.; MOHAMED, F. F. Effect of in ovo Injection of L-Threonine on Hatchability Followed by post-hatch Extra Level of Dietary Threonine on the Performance of Broilers. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v. 12, p. 605–612, 2022.

FARRÉ, R.; FIORANI, M.; ABDU RAHIMAN, S.; MATTEOLI, G. Intestinal Permeability, Inflammation and the Role of Nutrients. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1185, abr. 2020.

FASINA, Y. O.; HOERR, F. J.; MCKEE, S. R.; CONNER, D. E. Influence of Salmonella enterica Serovar Typhimurium Infection on Intestinal Goblet Cells and Villous Morphology in Broiler Chicks. **Avian Diseases**, v. 54, n. 2, p. 841–847, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1637/9055-090809-Reg.1>>.

FISCHER DA SILVA, A.; BORGES, S.; MAIORKA, A.; GIVISIEZ, P.; ROCHA, C.;

MACARI, M. Ornithine decarboxylase expression in the small intestine of broilers submitted to feed restriction and glutamine supplementation. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 9, n. 2, p. 111–115, jun. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516635X2007000200006&lng=en&tlng=en>.

GAAFARBR, K.; SELIM, S.; ELBALLAL, A. Effect of in-ovo administration with two levels of amino acids mixture on the performance of Muscovy ducks. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 1, p. 58, 2013. Disponível em: <<http://www.ejfa.me/index.php/journal/article/view/779>>.

GUERREIRO, Stefhany N. N., FIOREZZANO, Bianca, MOTTA, Ana C M., WADA, Fábio Y. Nutrição in ovo na avicultura industrial. **Anais do VII CONCCEPAR: Congresso Científico da Região Centro-Occidental do Paraná / Faculdade Integrado de Campo Mourão**, 2016.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte Dynamics and Mucosal Development in the Posthatch Chick. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 776–782, jun. 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119417586>>.

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

HE, W.; LI, P.; WU, G. **Amino Acids in Nutrition and Health**. Cham: Springer International Publishing, 2021. v. 1285109-131 p.

HORN, N. L.; RADCLIFFE, J. S.; APPELEGATE, T. J.; ADEOLA, O. Gut morphology and nutrient retention responses of broiler chicks and White Pekin ducklings to dietary threonine deficiency. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 90, n. 4, p. 513–520, 1 dez. 2010. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.4141/cjas10024>>.

JHA, R.; SINGH, A. K.; MISHRA, B. Early Nutrition Programming (in ovo and Post-hatch Feeding) as a Strategy to Modulate Gut Health of Poultry. 2019.

KADAM, M. M.; BAREKATAIN, M. R.; K BHANJA, S.; IJI, P. A. Prospects of in ovo feeding and nutrient supplementation for poultry: the science and commercial applications-a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 15, p. 3654–3661, dez. 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6301>>.

KHAN, J.; IIBOSHI, Y.; CUI, L.; WASA, M.; SANDO, K.; TAKAGI, Y.; OKADA, A. Alanyl-Glutamine-Supplemented Parenteral Nutrition Increases Luminal Mucus Gel and Decreases Permeability in the Rat Small Intestine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 24–31, 2 jan. 1999. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1177/014860719902300124>>.

KIM, S. W.; MATEO, R. D.; YIN, Y.-L.; WU, G. Functional Amino Acids and Fatty Acids for Enhancing Production Performance of Sows and Piglets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 2, p. 295–306, 27 nov. 2006. Disponível em: <<http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2007.295>>.

KPODO, K. R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Physiological effects of in ovo delivery of

bioactive substances in broiler chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, 16 mar. 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2023.1124007/full>>.

LEE, K. H.; PARK, J. H.; KIM, T. Y.; KIM, H. U.; LEE, S. Y. Systems metabolic engineering of *Escherichia coli* for L -threonine production. **Molecular Systems Biology**, v. 3, n. 1, jan. 2007.

LEITÃO, R. A. .; LEANDRO, N. S. M. .; CAFÉ, M. B. .; STRINGHINI, J. H.; PEDROSO, A. A. .; CHAVES, L. da S. INOCULAÇÃO DE GLICOSE EM OVOS EMBRIONADOS DE FRANGO DE CORTE: PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO E DESEMPENHO INICIAL. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, 2008.

LI, P.; YIN, Y.-L.; LI, D.; WOO KIM, S.; WU, G. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 2, p. 237–252, 1 ago. 2007. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S000711450769936X/type/journal_article>.

LI, R.; SONG, Z.; ZHAO, J.; HUO, D.; FAN, Z.; HOU, D.-X.; HE, X. Dietary L-threonine alleviated lipopolysaccharide-induced immunological stress in yellow-feathered broilers. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 265–272, set. 2018.

LINDEN, S. K.; SUTTON, P.; KARLSSON, N. G.; KOROLIK, V.; MCGUCKIN, M. A. Mucins in the mucosal barrier to infection. **Mucosal Immunology**, v. 1, n. 3, p. 183–197, 5 maio 2008. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/mi20085>>.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S. O.; MCNEIL, C. J. Glutamine in Animal Science and Production. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2525S–2531S, set. 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022316622145967>>.

LOPES, K. L. A. M., PEDROSO, A.A., LEANDRO, N. S. M., STRINGHINI, J. H.; BARBOSA, C. E., MACIEL, I. B. Efeito da inoculação de glutamina in ovo sobre o desempenho inicial de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 103, 2006.

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. **Poultry Science**. v.86, p.673-683, 2007.

MARC RHOADS, J.; WU, G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 111–122, 8 maio 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00726-008-0225-4>>.

MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F.; SANTIN, E.; BORGES, S. A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 487–490, out. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352000000500014&lng=pt&tlng=pt>.

MOREIRA FILHO, A. L. B.; FERKET, P. R.; MALHEIROS, R. D.; OLIVEIRA, C. J. B.; ARISTIMUNHA, P. C.; WILSMANN, D. E.; GIVISIEZ, P. E. N. Enrichment of the amnion

with threonine in chicken embryos affects the small intestine development, ileal gene expression and performance of broilers between 1 and 21 days of age. **Poultry Science**, v. 98, n. 3, p. 1363–1370, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey461>>.

MOREIRA FILHO, A. L. de B.; OLIVEIRA, C. J. B.; FREITAS NETO, O. C.; DE LEON, C. M. C. G.; SARAIVA, M. M. S.; ANDRADE, M. F. S.; WHITE, B.; GIVISIEZ, P. E. N. Intra-Amnionic Threonine Administered to Chicken Embryos Reduces Salmonella Enteritidis Cecal Counts and Improves Posthatch Intestinal Development. **Journal of Immunology Research**, v. 2018, p. 1–9, nov. 2018.

MURAKAMI, A. E.; SAKAMOTO, M. I.; NATALI, M. R. M.; SOUZA, L. M. G.; FRANCO, J. R. G. Supplementation of Glutamine and Vitamin E on the Morphometry of the Intestinal Mucosa in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 86, n. 3, p. 488–495, mar. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119441059>>.

NABI, F.; ARAIN, M. A.; BHUTTO, Z. A.; SHAH, Q. A.; BANGULZAI, N.; UJJAN, N. A.; FAZLANI, S. A. Effect of early feeding of L-arginine and L-threonine on hatchability and post-hatch performance of broiler chicken. **Tropical Animal Health and Production**, v. 54, n. 6, p. 380, dez. 2022.

NEWSHOLME, P. Why Is L-Glutamine Metabolism Important to Cells of the Immune System in Health, Postinjury, Surgery or Infection?. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2515S–2522S, 1 set. 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/131/9/2515S-2522S/4687557>>.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M. M. R.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T. C.; DOI, S. Q.; BAZOTTE, R. B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 2, p. 153–163, fev. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100879X2003000200002&lng=en&tlng=en>.

NOGUEIRA, E. Nutrição de Aminoácidos para Frangos de Corte. In: V Seminário Internacional de Aves e Suínos, 2006, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis - SC: AveSui, 2006. p. 136–167.

OAKLEY, B. B.; LILLEHOJ, H. S.; KOGUT, M. H.; KIM, W. K.; MAURER, J. J.; PEDROSO, A.; LEE, M. D.; COLLETT, S. R.; JOHNSON, T. J.; COX, N. A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, v. 360, n. 2, p. 100–112, 2014.

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**, n. 10, p. 1430–1436, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ps/80.10.1430>>.

OXFORD, J. H.; SELVARAJ, R. K. Effects of Glutamine Supplementation on Broiler Performance and Intestinal Immune Parameters During an Experimental Coccidiosis Infection. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 4, p. 1279–1287, dez. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1056617119322937>>.

PEDROSO, A. A.; CHAVES, L. S.; LUDOVICO, K.; MARTINEZ, D. A.; SUSANA, N.; LEANDRO, M.; CAFÉ, M. B.; STRINGHINI, J. H. Inoculação de nutrientes em ovos de matrizes pesadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 5, 2006.

PIERZYNOWSKI, S.G.; VALVERDE, P.J.L.; HOMMEL-HANSEN, T. et al. Glutamine in gut metabolism. In: PIVA A.; BACHLUUDSEN, K.E.; LINDBERG, J.E. (Eds). **Gut environment of pigs** Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p.43-62.

QAISRANI, S. N.; VAN KRIMPEN, M. M.; KWAKKEL, R. P.; VERSTEGEN, M. W. A.; HENDRIKS, W. H. Diet structure, butyric acid, and fermentable carbohydrates influence growth performance, gut morphology, and cecal fermentation characteristics in broilers. **Poultry Science**, v. 94, n. 9, p. 2152–2164, set. 2015.

RAY, R. M.; JOHNSON, L. R. Regulation of intestinal mucosal growth by amino acids. **Amino Acids**, v. 46, n. 3, p. 565–573, mar. 2014.

REICHER, N.; MELKMAN-ZEHAVID, T.; DAYAN, J.; WONG, E. A.; UNI, Z. Nutritional stimulation by in-ovo feeding modulates cellular proliferation and differentiation in the small intestinal epithelium of chicks. **Animal Nutrition**, v. 8, p. 91–101, mar. 2022.

ROSALEN, K.; CAMERINI, N. L.; PIAZZETTA, H. V. L.; BERENCHTEIN, B.; MOTA, D. A. Avaliação da temperatura corporal de frangos de corte usando imagens termográficas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 42176–42184, 2020. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/12460/10457>>.

RUBIN, L.; CANAL, C.; RIBEIRO, A.; KESSLER, A.; SILVA, I.; TREVIZAN, L.; VIOLA, T.; RABER, M.; GONÇALVES, T.; KRÁS, R. Effects of methionine and arginine dietary levels on the immunity of broiler chickens submitted to immunological stimuli. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 9, n. 4, p. 241–247, dez. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516635X2007000400006&lng=en&tlng=en>.

RUFINO, J.; CRUZ, F.; COSTA, V.; SILVA, A.; MELO, L.; BEZERRA, N. Effect of In Ovo Feeding of L-Glutamine to Chick Embryos. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 21, n. 4, 2019.

SALMANZADEH, M. ; EBRAHIMNEZHAD, Y. ; SHAHRYAR, H. A.; KANDI, J. G. 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**, v. 10, n. 3, p. 535–545, 2020.

SANDBERG, F. B.; EMMANS, G. C.; KYRIAZAKIS, I. The effects of pathogen challenges on the performance of naïve and immune animals: the problem of prediction. **The Animal Consortium**, v. 1, n. 1, p. 67–86, 2007.

SANTOS, T. T. dos; 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, n. 1, p. 1–12, mar. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1056617119311146>>.

SHAFEY, T. M.; MAHMOUD, A. H.; ALSOBAYEL, A. A.; ABOUHEIF, M. A. Effects of in ovo administration of amino acids on hatchability and performance of meat chickens. **South African Journal of Animal Science**, v. 44, n. 2, p. 123, 24 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ajol.info/index.php/sajas/article/view/105709>>.

SHEHATA, A. M.; PASWAN, V. K.; ATTIA, Y. A.; ABDEL-MONEIM, A.-M. E.; ABOUGABAL, M. S.; SHARAF, M.; ELMAZOUY, R.; ALGHAFARI, W. T.; OSMAN, M. A.; FARAG, M. R.; ALAGAWANY, M. Managing Gut Microbiota through In Ovo Nutrition Influences Early-Life Programming in Broiler Chickens. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3491, 7 dez. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2615/11/12/3491>>.

SIWEK, M.; SLAWINSKA, A.; STADNICKA, K.; BOGUCA, J.; DUNISLAWSKA, A.; BEDNARCZYK, M. Prebiotics and synbiotics – in ovo delivery for improved lifespan condition in chicken. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 402, 17 dez. 2018. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1738-z>>.

SLAWINSKA, A.; PLOWIEC, A.; SIWEK, M.; JAROSZEWSKI, M.; BEDNARCZYK, M. Long-Term Transcriptomic Effects of Prebiotics and Synbiotics Delivered In Ovo in Broiler Chickens. **PLOS ONE**, v. 11, n. 12, p. e0168899, 21 dez. 2016. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0168899>>.

TANG, Q.; TAN, P.; MA, N.; MA, X. Physiological Functions of Threonine in Animals: Beyond Nutrition Metabolism. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2592, jul. 2021.

TAHA-ABDELAZIZ, K.; HODGINS, D. C.; LAMMERS, A.; ALKIE, T. N.; SHARIF, S. Effects of early feeding and dietary interventions on development of lymphoid organs and immune competence in neonatal chickens: A review. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 201, p. 1–11, jul. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242717304014>>.

TAHMASEBI, S.; TOGHYANI, M. Effect of arginine and threonine administered in ovo on digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 5, p. 947–956, out. 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpn.12400>>.

TIZZARD, I. R. **Imunologia Veterinária – uma introdução**. Editora Roca, 2002. 120 p.

TOGHYANI, M. et al. Effect of arginine and threonine in ovo supplementation on immune responses and some serum biochemical attributes in broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, 2018.

TOGHYANI, M.; TAHMASEBI, S.; MODARESI, M.; ALE SAHEB FOSOUL, S. S. Effect of arginine and threonine in ovo supplementation on immune responses and some serum biochemical attributes in broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, v. 18, n. 1, p. 342–349, 2 jan. 2019. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1828051X.2018.1529545>>.

TONG, Q.; ROMANINI, C. E.; EXADAKTYLOS, V.; BAHR, C.; BERCKMANS, D.; BERGOU, H.; ETERRADOSSI, N.; ROULSTON, N.; VERHELST, R.; MCGONNELL, I. M.; DEMMERS, T. Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 620–628, mar. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119395628>>.

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. Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding patent 6, 592, 878. **North Carolina State University, Raleigh, NG**, 2003.

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, maio 2005.

UNI, Z.; YADGARY, L.; YAIR, R. Nutritional limitations during poultry embryonic development. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 1, p. 175–184, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S105661711930604X>>.

WALSH, N. P.; BLANNIN, A. K.; BISHOP, N. C.; ROBSON, P. J.; GLEESON, M. Effect of Oral Glutamine Supplementation on Human Neutrophil Lipopolysaccharide-Stimulated Degranulation Following Prolonged Exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 39–50, mar. 2000. Disponível em: <<https://journals.humankinetics.com/view/journals/ijsnem/10/1/article-p39.xml>>.

WANG, X.; QIAO, S.; YIN, Y.; YUE, L.; WANG, Z.; WU, G. A Deficiency or Excess of Dietary Threonine Reduces Protein Synthesis in Jejunum and Skeletal Muscle of Young Pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 6, p. 1442–1446, jun. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022316622092513>>.

WANG, J.; LIN, J.; WANG, J.; WU, S.; QI, G.; ZHANG, H.; SONG, Z. Effects of in ovo feeding of N-acetyl-L-glutamate on early intestinal development and growth performance in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 99, n. 7, p. 3583–3593, jul. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003257912030239X>>.

WILLEMSSEN, H.; DEBONNE, M.; SWENNEN, Q.; EVERAERT, N.; CAREGHI, C.; HAN, H.; BRUGGEMAN, V.; TONA, K.; DECUYPERE, E. Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, n. 2, p. 177–188, 1 jun. 2010. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1017/S0043933910000243>>.

WU, G.; BAZER, F. W.; JOHNSON, G. A.; KNABE, D. A.; BURGHARDT, R. C.; SPENCER, T. E.; LI, X. L.; WANG, J. J. TRIENNIAL GROWTH SYMPOSIUM: Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 7, p. 2017–2030, 1 jul. 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/89/7/2017/4764197>>.

XUE, G. D.; BAREKATAIN, R.; WU, S. B.; CHOCT, M.; SWICK, R. A. Dietary L-glutamine supplementation improves growth performance, gut morphology, and serum biochemical indices of broiler chickens during necrotic enteritis challenge. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1334–1341, abr. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119310004>>.

YI, G. F.; ALLEE, G. L.; KNIGHT, C. D.; DIBNER, J. J. Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v. 84, n. 2, p. 283–293, fev. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119491554>>.

ZAVARIZE, K. C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; GARCIA, E. A.; CRUZ, V. C. GLUTAMINA NA DIETA DE POEDEIRAS LEVES SUBMETIDAS AO ESTRESSE PELO CALOR E À TERMONEUTRALIDADE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 3, 29 set. 2011.

Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/2535>>.

ZHANG, Q.; CHEN, X.; EICHER, S. D.; AJUWON, K. M.; APPLEGATE, T. J. Effect of threonine deficiency on intestinal integrity and immune response to feed withdrawal combined with coccidial vaccine challenge in broiler chicks. **British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 12, p. 2030–2043, 28 dez. 2016.

Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114516003238/type/journal_article>.

ZHANG, B.; ZHONG, Q.; LIU, N.; SONG, P.; ZHU, P.; ZHANG, C.; SUN, Z. Dietary Glutamine Supplementation Alleviated Inflammation Responses and Improved Intestinal Mucosa Barrier of LPS-Challenged Broilers. **Animals**, v. 12, n. 13, p. 1729, jul. 2022.

ZIEGLER, T. R.; EVANS, M. E.; FERNÁNDEZ-ESTÍVARIZ, C.; JONES, D. P. Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair, and barrier function. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 229–261, jul. 2003. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073036>>.