

# ADMINISTRAÇÃO *IN OVO* DE GLUTAMINA E DE LISINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS NA PRIMEIRA SEMANA PÓS-ECLOSÃO

(*IN OVO ADMINISTRATION OF GLUTAMINE AND LYSINE ON THE DEVELOPMENT OF INTESTINAL MUCOSA OF BROILER CHICKENS ON THE FIRST WEEK AFTER HATCHING*)

(*EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN IN OVO DE GLUTAMINA Y DE LISINA SOBRE EL DESARROLLO DE LA MUCOSA INTESTINAL DE POLLOS DE ENGORDE*)

**B. S. VIEIRA<sup>1</sup>, D. E. FARIA FILHO<sup>2</sup>, K. A. A. TORRES<sup>2</sup>,  
D. M. BORGES<sup>2</sup>, P. S. ROSA<sup>2,3</sup>, R. L. FURLAN<sup>4</sup>**

## RESUMO

Foi conduzido um experimento com o objetivo de avaliar o efeito de injeções *in ovo* de glutamina e de lisina sobre o desenvolvimento intestinal de frangos de corte de 1 a 7 dias. Foram utilizados 300 ovos férteis, de matrizes Cobb®, submetidos aos tratamentos: - injeção de glutamina (1%); - injeção de lisina (1%); - injeção de água bi-destilada; - controle sem injeção. As injeções (150µL) foram aplicadas na cavidade alantóide no 11º dia de incubação. No 1º, 4º e 7º dias pós-eclosão foi avaliado o peso médio corporal e realizadas análises morfológicas da mucosa do intestino delgado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 3 (tratamento x idade). O peso médio corporal ao nascimento não foi alterado pelos tratamentos, no entanto, as aves do grupo controle foram mais pesadas no 4º e 7º dias. No primeiro dia de vida, a largura das vilosidades intestinais foi maior nas aves provenientes de ovos submetidos à injeção de água, assim como a altura das vilosidades do duodeno e jejuno. Entretanto, no 4º e 7º dias de vida não se observou diferença na altura e largura das vilosidades entre os tratamentos. Os resultados deste estudo sugerem que injeções *in ovo*, via cavidade alantóide, de solução de glutamina e de lisina nas concentrações de 1g/100 mL de água não melhoram o desenvolvimento (peso vivo) e as características morfológicas do intestino das aves nos primeiros sete dias de vida.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aminoácidos. Alimentação *in ovo*. Mucosa intestinal. Primeira semana.

## SUMMARY

This study evaluated the effect of *in ovo* glutamine and lysine injections on the intestinal development of broiler chickens from the first to the seventh day of life. Three hundred fertile eggs from Cobb® broiler breeders were submitted to the treatments: - glutamine injection (1%); - lysine injection (1%); - water injection; - control group without injection.

---

<sup>1</sup> Aluno do curso de Medicina Veterinária – FCAV / UNESP

<sup>2</sup> Aluno de Pós-Graduação em Zootecnia – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – FCAV / UNESP

<sup>3</sup> Pesquisador Embrapa Suínos e Aves e Docente da UnC, Concórdia-SC

<sup>4</sup> Docente do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – FCAV / UNESP - Via de acesso Paulo Donato Castellane, Km 5, 14.884-900, Jaboticabal, SP. rlfurlan@fcav.unesp.br

The injections (150µL) were applied in the allantoic cavity at 11 days of incubation. At day 1, 4 and 7 post-hatch body weight was recorded and samples of small intestine were collected for mucosa morphometric analysis. The experiment was performed in a completely randomized 4X3 factorial design (treatment x age). Body weight at hatch was not affected by treatments; however, broilers from control group were heavier at 4° and 7° days. At hatch, the intestinal villus width was larger in chicks coming from eggs injected with water. The same occurs with the jejunal and ileal villus size. However, at 4 and 7 days of age, villus width and size were similar among treatments. The findings of this study suggest that *in ovo* injection of glutamine and lysine (1g/100mL water) in the allantoic cavity do not improve broiler chickens performance (body weight) and intestinal development at the first week posthatch.

**KEY-WORDS:** Amino acid. First week post hatch. Small intestine. *In ovo* feeding.

## RESUMEN

El experimento fue conducido con el objetivo de evaluar el efecto de inyecciones *in ovo* de glutamina y lisina sobre el desarrollo del intestino en pollos de engorde de 1 a 7 días. Fueron utilizados 300 huevos fértiles, de reproductoras Cobb®, sometidos a los siguientes tratamientos: inyección de glutamina (1%); inyección de lisina (1%); inyección de agua bi-distilada; control sin inyección. Las inyecciones (150 µL) fueron aplicadas en la cavidad alantoidea en el 11° día de incubación. En el 1°, 4° y 7° día post-eclosión fueron evaluados el peso promedio corporal y fueron realizados análisis morfométricos de la mucosa del intestino delgado. El diseño experimental fue completamente al azar, en esquema factorial 4 x 3 (tratamiento x edad). El peso promedio corporal al nacimiento no fue alterado por los tratamientos, sin embargo las aves del grupo control fueron más pesadas a los 4° y 7° días. En el primer día de vida, el ancho de las vellosidades intestinales fue mayor en las aves provenientes de huevos sometidos a inyección de agua, así como la altura de las vellosidades del duodeno y yeyuno. No obstante, en los 4° e 7° días de vida no se observó diferencia entre la altura y el ancho de las vellosidades entre los tratamientos. Los resultados de este estudio sugieren que las inyecciones *in ovo*, vía cavidad alantoidea, de solución de glutamina y de lisina en las concentraciones de 1g/100 mL de agua no mejoraron el desarrollo (peso vivo) ni las características morfológicas del intestino de las aves en los primeros siete días de vida.

**PALABRAS-CLAVE:** Aminoácidos. Alimentación *in ovo*. Mucosa intestinal. Primera semana.

## INTRODUÇÃO

O aproveitamento do conteúdo nutricional dos alimentos está diretamente relacionado com a estrutura e a integridade do epitélio intestinal, tendo em vista que parte do processo digestivo, bem como a absorção dos nutrientes, ocorrem nos enterócitos. Considerando-se ainda que o desenvolvimento embrionário das aves é dependente dos nutrientes do ovo, quanto maiores forem a concentração e a taxa de utilização dos mesmos durante o período de incubação, melhores serão as condições de crescimento e maturação do embrião. Neste sentido, Al-Murrani (1982) mostrou que a injeção de aminoácidos *in ovo* aumentou o peso ao nascimento e aos 56 dias em frangos de corte, confirmando sua teoria de que o conteúdo protéico normal do ovo pode restringir a expressão de todo potencial genético da ave para ganho de peso. Por outro lado, Ohta et al. (1999) afirmaram que a composição aminoacídica do ovo já é a ideal para o desenvolvimento embrionário adequado.

No momento da eclosão, o sistema digestório do pinto está anatomicamente completo (OVERTON e SHOUP, 1964), mas sua capacidade funcional ainda não está

totalmente desenvolvida. Assim, a maturação pós-eclosão da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento em número e volume de suas células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas) e, portanto, em um aumento na capacidade digestiva e absorptiva do intestino. No intestino delgado de frangos de corte, tais alterações morfológicas ocorrem marcadamente entre o 17° dia de incubação e o sétimo dia pós-eclosão (UNI et al., 1998), podendo o tamanho das vilosidades aumentar em 200 a 300% no período final da incubação (SKLAN, 2001). Segundo Sell (1996), a capacidade do trato digestório do frango durante a primeira semana de vida pode ser considerada um fator limitante tanto para o consumo de alimentos quanto para a digestão e a absorção de nutrientes. Sendo assim, quanto mais cedo o intestino atingir sua maturidade funcional mais precocemente o pintainho poderá utilizar os nutrientes dietéticos e expressar todo seu potencial genético para ganho de peso (UNI e FERKET, 2004).

Todo o processo de maturação intestinal é marcado por intensa atividade celular e, sendo assim, exige grande quantidade de energia. Considerando que a glutamina é

reconhecidamente um substrato energético para células com alto índice mitótico como os enterócitos (LACEY e 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 e WILMORE, 1990, HALL et al., 1996). Outras substâncias que atuam como estimulantes do desenvolvimento intestinal são as poliaminas putrescina e cadaverina, oriundas da descarboxilação da ornitina e da lisina, respectivamente. Smith et al. (1996) concluíram que a administração de cadaverina na ração de frangos de corte estimula o desenvolvimento do trato intestinal. Em outro trabalho, Smith et al. (2000) demonstraram um importante papel das poliaminas na maturação do aparelho digestório pós-eclosão, o que resultou em redução na taxa de mortalidade de perus durante os primeiros dias de vida.

No entanto, poucos estudos relacionando o grau de desenvolvimento embrionário do trato digestório com o desempenho inicial dos pintainhos foram realizados. Neste sentido, este trabalho teve por objetivos avaliar o efeito da administração *in ovo*, via cavidade alantóide, de lisina e de glutamina sobre o desenvolvimento intestinal de frangos de corte.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Período de Incubação

O processo de incubação foi realizado no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp/Jaboticabal. Foram utilizados 300 ovos férteis de matrizes pesadas de 49 semanas de idade, da linhagem Cobb®, provenientes de incubatório comercial e estocados por dois dias.

Os ovos foram divididos em quatro grupos de 75 unidades cada, com peso médio de  $56,8 \pm 3,44$  g, aleatoriamente distribuídos e incubados a  $37,4^{\circ}\text{C}$  e 60% de umidade relativa em incubadora Premium 600®. No sétimo dia de incubação foi realizada ovoscopia, sendo descartados os ovos inférteis. Com 11 dias de incubação cada grupo de ovos recebeu um dos seguintes tratamentos: 150µL de água bidestilada (Milli-Q); 150µL de solução de glutamina (1%); 150µL de solução de lisina (1%); grupo controle sem injeção. As soluções foram injetadas na cavidade alantóide, com o auxílio de agulhas 0,7 X 25 mm e o orifício causado na casca foi imediatamente selado com fita adesiva. Os pintainhos foram retirados do nascedouro às 510 horas de incubação.

### Período Pré-inicial

Os pintos recém-nascidos foram pesados e alojados até o 7º dia de idade em baterias no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias Unesp/Jaboticabal, onde foram criados em temperatura termoneutra, recebendo ração inicial padrão (NRC, 1994) e água à vontade.

No 1º, 4º e 7º dias de idade, cinco aves por tratamento foram selecionadas de acordo com o peso, sacrificadas por deslocamento cervical e submetidas à dissecação intestinal. Para as análises morfológicas do intestino delgado foram coletadas amostras de aproximadamente 1,5 cm do ponto médio do duodeno, do ponto médio entre a entrada do ducto biliar e o divertículo de Meckel (jejuno) e do ponto médio entre o divertículo de Meckel e a junção íleo-cecal (íleo). Os segmentos foram abertos em toda sua extensão pela borda mesentérica, estendidos em uma base de papel rígido e lavados em água corrente. As amostras foram então imersas em solução fixadora de Bouin, onde permaneceram por 24 horas. Em seguida foram desidratadas em soluções de concentração crescente de etanol (70% a absoluto), diafanizadas em xilol, incluídas em parafina, microtomizadas a 5µm, dispostas em lâminas de vidro e coradas por hematoxilina de Harris-eosina. Para cada segmento intestinal foram efetuados seis cortes de regiões diferentes, cujas imagens digitalizadas foram analisadas no programa Image-J®. Foram realizadas 80 leituras por lâmina, mensurando-se, ao acaso, a altura da vilosidade mais cripta e a largura da parte mediana da vilosidade.

### Análise Estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 X 3 com os fatores injeção *in ovo* (água, lisina, glutamina e ovos não-injetados) e idade pós-eclosão (1, 4 e 7 dias), totalizando 12 tratamentos com cinco repetições. Foram testadas as pressuposições de normalidade dos erros estudentizados e de homogeneidade de variâncias. Após a verificação do atendimento dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (*General Linear Models*) do programa SAS® (SAS Institute, 1996) e, em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se interação significativa entre tratamento e idade para o peso corporal (Tabela 1), porém não houve diferença de peso ao nascimento entre as aves ( $p>0,05$ ). Ohta et al. (1999), estudando o efeito da administração *in ovo* de um *pool* de aminoácidos sobre o peso corpóreo de frangos de corte, também não encontraram diferença de peso ao nascimento entre os tratamentos e afirmaram que possivelmente a composição aminoacídica do ovo é a ideal para o desenvolvimento embrionário adequado. A partir do quarto dia de idade

foram observados menores pesos corporais ( $p < 0,05$ ) nos grupos que receberam injeção *in ovo*, quando comparados ao grupo controle. Em média, os pintos do grupo controle foram 14,6 e 9,9% mais pesados no quarto e sétimo dias, respectivamente. Maiorka (2002) observou que a suplementação dietética pós-eclosão de glutamina proporcionou maior ganho de peso aos sete dias de idade. Neste trabalho, a administração *in ovo* de glutamina, lisina ou água não apresentou resultado positivo quanto ao ganho de peso corporal.

Os resultados de altura de vilosidade mais cripta e largura de vilosidade no duodeno encontram-se na Tabela 2. Houve interação significativa entre tratamento e idade para altura de vilosidade mais cripta. Considerando o efeito dos tratamentos dentro de cada idade, observou-se que a injeção de água bidestilada proporcionou maior altura de vilosidade mais cripta ao nascimento ( $p < 0,05$ ), no entanto este efeito desapareceu no quarto e sétimo dias de idade. O efeito da idade dentro de cada tratamento mostrou que as aves do grupo que recebeu injeção de água *in ovo* não apresentaram crescimento significativo de vilosidades mais cripta do nascimento até o quarto dia. Esses resultados demonstraram que a injeção de água *in ovo* exerceu efeito positivo sobre o desenvolvimento da mucosa duodenal pré-eclosão, mas o alojamento e arraçoamento pós-eclosão diluíram tal efeito.

Não houve interação significativa entre tratamento e idade para largura das vilosidades do duodeno, no entanto, analisando os efeitos principais verificou-se que as aves dos grupos que receberam injeção de água ou de glutamina apresentaram maior largura de vilosidades ( $p < 0,05$ ). Aumento progressivo na largura das vilosidades foi observado, em todos os tratamentos, com o avanço da idade.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentadas as interações ( $p < 0,05$ ) entre tratamento e idade para altura e largura das vilosidades no jejuno e largura de vilosidades no íleo, respectivamente. Da mesma forma que no duodeno, a

injeção de água bidestilada proporcionou maior altura de vilosidade mais cripta ao nascimento no jejuno, sendo este efeito diluído a partir do quarto dia de idade. A largura das vilosidades jejunais apresentou o mesmo comportamento. As aves do grupo que recebeu injeção de água *in ovo* não apresentaram crescimento significativo de altura de vilosidade mais cripta entre as duas primeiras coletas.

Não houve interação significativa nem efeito do tratamento para altura de vilosidade mais cripta no íleo, no entanto, verificou-se aumento progressivo na altura das vilosidades com o avanço da idade. Tratamento e idade interagiram significativamente para largura das vilosidades no íleo. A exemplo do jejuno, a largura das vilosidades do íleo, ao nascimento, foi maior nas aves do grupo que recebeu injeção de água ( $p < 0,05$ ). As aves desse grupo não apresentaram aumento significativo na largura das vilosidades durante todo o período experimental. Os dados obtidos corroboram com os de Geyra et al. (2001), cujas observações revelaram um desenvolvimento mais lento da mucosa do íleo em relação ao das mucosas do duodeno e jejuno, indicando que os enterócitos ileais apresentam-se relativamente maduros ao nascimento. Noy e Sklan (1997) também observaram que a altura do vilos aumenta mais rapidamente no duodeno e no jejuno. Esses resultados indicam que o crescimento dos três segmentos do intestino delgado não é similar.

De uma forma geral, verificou-se maior desenvolvimento pré-eclosão da mucosa intestinal nas aves do grupo que recebeu injeção de água bidestilada. A água é essencial durante a incubação, e a manutenção de sua relação ideal dentro do ovo é fator primordial para o desenvolvimento normal do embrião. De acordo com Peebles et al. (1987), a taxa de perda de água dos ovos é diretamente proporcional à taxa de maturação do embrião e, nesse sentido, um maior nível de desenvolvimento embrionário provavelmente exigiria uma quantidade maior de água no ovo para manutenção de sua concentração ideal.

**Tabela 1** - Peso médio (g) de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade submetidos a injeções de aminoácidos *in ovo*.

Tratamento	Idade (dias)			Média
	1	4	7	
Água	44,3 Ac	71,3 Bb	128,1 Ba	81,2
Lisina	45,9 Ac	70,1 Bb	120,3 Ba	68,4
Glutamina	46,3 Ac	67,6 Bb	129,1 Ba	81,0
Controle	47,0 Ac	81,6 Ab	139,6 Aa	89,4
<b>Média</b>	45,9	72,6	130,9	

Médias seguidas de letra diferente maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV(%) = 4,7.

**Tabela 2** - Altura de vilosidade mais cripta e largura de vilosidade do duodeno de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade submetidos a injeções de aminoácidos *in ovo*.

Tratamento	Altura ( $\mu\text{m}$ )			Média	Largura ( $\mu\text{m}$ )			Média
	1º dia	4º dia	7º dia		1º dia	4º dia	7º dia	
Água	653,7 Ab	729,8 Ab	1065,8 Aa	816,4	73,8	73,7	79,4	75,6 A
Lisina	492,2 ABc	765,7 Ab	992,4 Aa	750,1	64,6	65,9	74,2	68,2 B
Glutamina	460,8 Bc	801,9 Ab	1066,3 Aa	776,3	59,7	69,7	75,5	68,3 AB
Controle	482,9 Bc	847,9 Ab	989,8 Aa	773,5	55,3	67,4	76,4	66,4 B
<b>Média</b>	522,4	786,3	1028,6		63,4 c	69,2 b	76,4 a	

Médias seguidas de letra diferente maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV(%)\_Altura = 10,6; CV(%)\_Largura = 10,8.

**Tabela 3** - Altura de vilosidade mais cripta e largura de vilosidade do jejuno de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade submetidos a injeções de aminoácidos *in ovo*.

Tratamento	Altura ( $\mu\text{m}$ )			Média	Largura ( $\mu\text{m}$ )			Média
	1º dia	4º dia	7º dia		1º dia	4º dia	7º dia	
Água	504,9 Ab	603,1 Ab	863,2 Aa	657,1	68,2 Aa	63,4 Aa	70,9 Aa	67,5
Lisina	308,7 Bc	591,4 Ab	835,2 Aa	578,4	51,2 Ba	57,8 Aa	67,4 Aa	58,8
Glutamina	337,8 Bc	561,9 Ab	813,1 Aa	570,9	53,6 Bb	68,1 Aa	61,5 Aab	61,0
Controle	329,8 Bc	664,8 Ab	905,8 Aa	633,5	47,8 Bc	60,5 Ab	73,2 Aa	60,5
<b>Média</b>	370,3	605,3	854,31		55,2	62,5	68,2	

Médias seguidas de letra diferente maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV(%)\_Altura = 11,9; CV(%)\_Largura = 10,7.

**Tabela 4** - Altura de vilosidade mais cripta e largura de vilosidade do íleo de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade submetidos a injeções de aminoácidos *in ovo*.

Tratamento	Altura ( $\mu\text{m}$ )			Média	Largura ( $\mu\text{m}$ )			Média
	1º dia	4º dia	7º dia		1º dia	4º dia	7º dia	
Água	358,1	387,8	530,6	425,5	57,0 Aa	55,3 Aa	66,2 Aa	59,5
Lising	262,4	386,8	549,8	399,7	37,6 Bb	58,1 Aa	64,4 Aa	53,4
Glutamina	307,9	412,5	529,4	416,6	41,9 Bb	57,9 Aa	67,2 Aa	55,7
Controle	305,9	448,0	515,9	423,3	42,3 Bb	56,8 Aab	64,6 Aa	54,6
<b>Média</b>	308,6 c	408,8 b	531,4 a		44,7	57,0	65,59	

Médias seguidas de letra diferente maiúscula na coluna e minúscula na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV(%)\_Altura = 13,3; CV(%)\_Largura = 11,9.

A passagem de moléculas do alantóide para o sistema circulatório do embrião é extremamente limitada (WILLIAMS, 2004), o que permite supor que a ação local das soluções injetadas foi superior à sistêmica. Maiorka et al. (2003) afirmaram que tanto a composição química do alimento quanto sua presença física no lúmen intestinal afetam o desenvolvimento dos vilos. Considerando-se que a cavidade alantóide é a origem embriológica da parede interna do intestino, tal afirmação poderia explicar o efeito positivo da água sobre o desenvolvimento da mucosa

intestinal observado neste experimento.

Os resultados mostraram ainda que as injeções de aminoácido não induziram alterações morfométricas significativas na mucosa intestinal dos pintainhos. Provavelmente, a manutenção da relação ideal entre os aminoácidos no ovo assumia grande importância no metabolismo do embrião, o que justificaria a ausência de resultados positivos com a administração de forma individual. Trabalhos recentes comprovam o efeito local positivo da glutamina sobre o desenvolvimento da

mucosa intestinal de frangos pós-eclosão, porém, possivelmente o estímulo contínuo deste aminoácido ou de outras substâncias tróficas na luz intestinal seja mais efetivo do que uma exposição única *in ovo*.

## CONCLUSÕES

A injeção *in ovo*, via cavidade alantóide, de soluções de glutamina ou de lisina a 1%, não melhora o ganho de peso e as características morfométricas da mucosa intestinal de frangos de corte nos primeiros sete dias de vida.

## AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), proc. n° 04/01294-0.

ARTIGO RECEBIDO: Setembro/2005  
APROVADO: Março/2007

## REFERÊNCIAS

- 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.
- GEYRA, A., UNI, Z., SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v.80, p.776-782, 2001.
- HALL, J. C., HEEL, K., MCCAULEY, R. Glutamine. **British Journal of Surgery**, v.83, p.305-312, 1996.
- LACEY, J. M., WILMORE, D. W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? **Nutrition Review**, v.48, p.297-309, 1990.
- MAIORKA, A. **Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte**. Jaboticabal, SP. 2002. 103f. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- MAIORKA, A., SANTIN, E., DAHLKE, F., BOLELI, I. C., FURLAN, R. L., MACARI, M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **Journal Applied Poultry Research**, v.12, p.483-492, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**. 9th Rev. ed. National Academy Press, DC, 1994.
- NOY, Y., SKLAN, D. Posthatch development of poultry. **Journal Applied Poultry Research**, v.6, p.344-354, 1997.
- OHTA, Y., TSUSHIMA, N., KOIDE, K., KIDD, M.T., ISHIBASHI, T. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. **Poultry Science**, v.78, p.1493-1498, 1999.
- VERTON, J., SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **Journal Cell Biology**, v.21, p.75-82, 1964.
- PEEBLES, E. D., BRAKE, J., GILDERSLEEVE, R. P. Effects of eggshell cuticle removal and incubation humidity on embryonic development and hatchability of broilers. **Poultry Science**, v.66, p.834-840, 1987.
- SAS INSTITUTE. **SAS User's Guide: Statistics**. Version 7.0. Cary: SAS Institute, 1996.
- SELL, J. L. Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. **Journal Applied Poultry Research**, v.5, p.96-101, 1996.
- SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.57, p.415-427, 2001.
- SMITH, T. K., FLEMING, H.E., SEDDON, I. R. The effect of dietary cadaverine on chick growth and intestinal polyamine metabolism. **FASEB Journal**, v.10, p.A512 (abstract), 1996.
- SMITH, T. K., SALAZAR, M. T., SUAREZ, L. E. C., MARIE, D. R. Feed-borne biogenic amines: Natural toxicants or growth promoters? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 5., 2000, México. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.uanl.mx/publicaciones/maricultura/acuiculturav/tsmith.pdf>>. Acesso em: 10dez. 2003.
- UNI, Z., GANOT, S., SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v.77, p.75-82, 1998.
- UNI, Z., AND P. R. FERKET. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.101-111, 2004.
- WILLIAMS, C. J. Princípios fundamentais e fatores fisiológicos da injeção *in ovo*. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2004. **Anais...**v.1, p.171-177.