

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**FERNANDA MOREIRA DELAVY**

**SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO EM OVOS FÉRTEIS DE MATRIZES DE  
CORTE**

**DOIS VIZINHOS  
2021**

**FERNANDA MOREIRA DELAVY**

**SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS EM OVOS FERTÉIS DE MATRIZES DE  
CORTE**

**Supplementation with probiotics in fertile eggs of broiler breeder hens**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia do Programa de Pós-Graduação de zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Sabrina Endo Takahashi.

Coorientadora: Nédia de Castilho Ghisi.

**DOIS VIZINHOS**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Dois Vizinhos**



FERNANDA MOREIRA DELAVY

### **SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO EM OVOS FÉRTEIS DE MATRIZES DE CORTE**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).  
Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação: 30 de Julho de 2021

Prof.a Sabrina Endo Takahashi, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Patricia Franchi De Freitas, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof William Vicente Narvaez Solarte, Doutorado - Universidad de Caldas

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 30/07/2021.

**À minha Mãe e aos Amigos que  
Acreditaram em mim!**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me fornecido forças para que eu não desistisse, em meio a tantos desafios que a pós-graduação me proporcionou.

À minha mãe, que mesmo em tempos difíceis, sempre me auxiliou e incentivou, compreendendo a minha ausência enquanto eu me dedicava aos estudos.

Aos meus amigos e colegas de turma, os quais convivi intensamente nos últimos anos, compartilhando momentos de descobertas e de aprendizado.

À minha amiga Kelli Flores Garcez e à Vanessa Poquioma, quero agradecer de coração. Não existem palavras suficientes para descrever o quanto vocês são importantes para mim, e por estarem ao meu lado, incondicionalmente, me apoiando e, principalmente, acreditando em mim, em situações que muitas vezes eu mesma não acreditava.

Ao professor Marcos Furlan, que desde a graduação sempre me incentivou, e esteve ao meu lado. Hoje eu não estaria aqui se não fosse pelo seu incentivo e dedicação comigo. Sei que eu não tenho só um professor, mas sim um amigo.

À professora e orientadora Sabrina por ter sido minha orientadora, e ter desempenhado a função com dedicação.

À minha coorientadora Nédia Ghisi, que me ajudou e me auxiliou, e fez parte do meu crescimento junto à Universidade.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por ter sido essencial para o meu desenvolvimento profissional, acadêmico, mas principalmente humano.

Ao Júnior, por me receber de braços abertos para a realização do presente trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Com esse apoio (bolsa de estudo), consegui por um período me dedicar inteiramente a pós-graduação.

*“É necessário sair da ilha para ver a ilha, não nos vemos se não saímos de nós”.*  
*José Saramago*

## RESUMO

A produção avícola passou por diversas transformações ao longo dos anos. Atualmente, a nutrição *in ovo* é um procedimento que pode fornecer diversos tipos de nutrientes para o embrião, suprimindo as deficiências recorrentes nessa fase ou nas futuras. Os probióticos são microrganismos relevantes para o desempenho dos animais, pois proporcionam efeitos satisfatórios na produção. O presente estudo teve como objetivo verificar a influência do probiótico *in ovo*, no desenvolvimento embrionário e na produção avícola. Na primeira etapa, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos (controle; vacina de Mareck comercial; e probióticos *in ovo* com a vacina de Mareck), e 192 ovos por tratamento, totalizando 576 ovos. No dia do nascimento, foi avaliado a porcentagem de eclodibilidade, os inférteis e a causa da mortalidade dos embriões que foram submetidos aos tratamentos, que por sua vez não apresentaram diferença ( $p>0,05$ ). Os pintainhos que foram vacinados *in ovo*, tiveram o seu peso, o comprimento, o peso sem o saco vitelino, peso do intestino, o peso do saco vitelino, peso do fígado, peso do coração, e o peso do estômago junto a moela, obtiveram resultados semelhantes aos tratamentos controle ( $p>0,05$ ), indicando que o procedimento de inoculação, não afetou o desenvolvimento das aves. As variáveis para determinar a qualidade dos pintainhos, referente ao nascimento não apresentaram diferença entre os tratamentos. Para o experimento a campo, as aves permaneceram separadas de acordo com o tratamento feito no incubatório, ou seja, os 3 tratamentos utilizados na primeira etapa com 8 repetições (por tratamento), totalizando 24 grupos com 20 aves cada. Além disso, ao final dos 21 dias de vida, duas aves por repetição foram eutanasiadas para verificação do desenvolvimento dos órgãos. Na avaliação do desenvolvimento dos órgãos aos 21 dias, em frangos submetidos aos três tratamentos, não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos nos parâmetros: peso da ave, peso do intestino, peso do fígado, peso do coração, e peso do estômago mais a moela. Sendo assim, a inoculação também não afetou o desenvolvimento dos órgãos em frangos. Conclui-se que o probiótico testado não proporcionou efeitos negativos no desenvolvimento embrionário e na produção de frangos de corte.

**Palavras-chave:** Aves. Intestino. Microrganismo.

## ABSTRACT

The poultry industry has undergone several transformations over the last years. Currently, the nutrition *in ovo* is a procedure that allow providing different types of nutrients to the embryo, supplying the nutritional deficiencies at this stage. Probiotics are relevant microorganisms for the performance of animals, providing satisfactory effects on production. This study aimed to verify the influence of *in ovo* probiotic on embryonic development and poultry production. In the first stage, it was done a completely randomized design, with 3 treatments (control; comercial Mareck vaccine; and *in ovo* probiotics with Mareck vaccine). There were used 192 eggs per tretment, totaling 576 eggs. On the day of birth, the percentage of hatchability, the infective ones and the cause of mortality of the embryos that were submitted to the treatments were evaluated, which in turn showed no difference ( $p>0,05$ ). The values of weight, length, weight without the yolk sac, bowel weight, yolk sac weight, liver weight, heart weight, and stomach weight with the gizzard of the chicks that were vaccinated *in ovo* showed similar results with the control treatments ( $p>0,05$ ) what meant that the inoculation procedure did not affect the development of the birds. The variables to determine the quality of the chicks, referring to birth, did not differ between treatments. For the field experiment, the birds remained separated according to the treatment made in the hatchery, that is, the 3 treatments used in the first stage with 8 repetitions (per treatment), totaling 24 groups with 20 birds each. In addition, after the 21 life day, two birds per repetition were euthanized to verify the development of organs. No significant differences were found in the bird weight, the intestine weight, the liver weight, the weight of the heart, and the weight of the stomach plus the gizzard within the 3 treatments. Thus, the inoculation did not affect the development of organs in chickens either. It is concluded that the tested probiotic did not provide negative effects on embryonic development and production of broiler chickens.

**Keywords: Broiler. Intestine. Microorganism.**



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fotografia 1 - Ovos que foram selecionados para incubação .....	18
Fotografia 2 - Bandejas antes da incubação.....	19
Fotografia 3 - Posição dos ovos dentro da incubadora .....	19
Fotografia 4 - Ovoscopia dos ovos (A). Mortalidade embrionária (B) .....	20
Fotografia 5 - Aplicação dos tratamentos com vacinadora (A). Bag com a vacina de Marek e o probiótico in ovo (B) .....	21
Fotografia 6 - Preparação da vacina de Marek no diluente .....	21
Fotografia 7 - Perfuração in ovo da vacinadora automática (A). Os ovos posicionados na bandeja de nascimento (B) .....	22
Fotografia 8 - Bandejas dispostas no nascedouro.....	22
Fotografia 9 - Sexagem de pintainhos ao nascimento, macho (A) e fêmea (B) .....	23
Fotografia 10 - Pintainhos após a sexagem (A) e Contador com infravermelho (B). .....	23
Fotografia 11 - Mortalidade fase III (A) e ovo picado (B) .....	24
Fotografia 12 - Avaliação do peso (A) e comprimento dos pintainhos ao nascimento (B) .....	25
Fotografia 13 - Avaliação macroscópica nos olhos (A). Avaliação macroscópica no umbigo (B) .....	25
Fotografia 14 - Amostra para realização da eutanásia .....	27
Fotografia 15 - Órgãos coletados para a pesagem (A). Pesagem do proventrículo e ventrículo, na balança analítica (B).....	27
Fotografia 16 - Campânulas elétricas (A).....	28
Figura 1 - Avaliação da qualidade nos nascimentos dos pintainhos .....	32

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1</b> - Parâmetros para a determinação da qualidade dos pintainhos. ....	26
<b>Tabela 2</b> - Composição dos níveis de garantia da ração para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. ....	29
<b>Tabela 3</b> - Porcentagem de eclodibilidade após o período de incubação de 21 dias. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Peso vivo ao nascimento, comprimento ao nascimento, peso ao nascimento sem o saco vitelino, peso do intestino ao nascimento, peso do saco vitelino, peso do fígado, peso do coração, e peso do estômago + moela. ....	31
<b>Tabela 5</b> - Peso vivo e peso dos órgãos as ao aos 21 dias, peso do intestino aos 21 dias, peso do fígado aos 21 dias, peso do coração aos 21 dias, e peso do estômago + moela aos 21 dias. ....	32
<b>Tabela 6</b> - Avaliação de desempenho dos frangos aos 7, 14 e 21 dias de idade. ....	33

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1. Desenvolvimento embrionário.....	14
2.2. Nutrição <i>in ovo</i> e probióticos.....	15
2.3. Saúde intestinal .....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1. Ovoscopia .....	20
3.2. Descrição da vacinação <i>in ovo</i> .....	20
3.3. Nascimento dos pintainhos.....	22
3.4. Avaliação da taxa de eclosão total e do embriodiagnóstico .....	23
3.5. Qualidade dos pintainhos .....	24
3.6. Pesagem dos órgãos para avaliação do desenvolvimento. ....	26
3.7. Avaliação do desempenho. ....	28
3.8. Galpão experimental.....	28
3.9. Análise Estatística.....	30
4. RESULTADOS.....	30
5. DISCUSSÃO .....	33
6. CONCLUSÃO .....	36
7. REFERÊNCIAS.....	37

## 1. INTRODUÇÃO

A disponibilidade de diversos recursos, tanto naturais quanto tecnológicos, impulsionou o Brasil a ser um dos maiores produtores e exportadores de produtos agrícolas, tornando o meio rural como principal responsável pelo progresso econômico, social e ambiental.

Dentre os diferentes setores da agroindústria brasileira, a produção avícola é categorizada como a cadeia produtiva mais relevante. Segundo Reck; Schultz (2016), a produção avícola possui considerável investimento tecnológico e de capital e, por isso, proporciona maior número de empregos. A principal relevância dessa produção é devido ao fato de que o ciclo produtivo é rápido e, dentre as produções animais, é considerada a de menor custo na oferta de proteína animal. Conseqüentemente, cativa consumidores de diferentes classes sociais.

Os avanços tecnológicos na avicultura, além de proporcionar melhorias para os produtores com a automatização dos processos e melhor controle na produção, assegurou que os consumidores recebessem um produto com maior qualidade e segurança alimentar. No entanto, devido ao sucesso alcançado, torna-se cada vez mais desafiador manter a competitividade na produção de frango. Sendo assim, é de extrema importância que continue a busca por aumentos na produtividade, atendendo a demanda e a oferta de um produto com adequada sanidade (SCHMIDT; DA SILVA, 2018).

Existem diversos tipos de tecnologias que podem ser empregadas na avicultura. Como exemplo, a nutrição *in ovo* é uma técnica que pode ser usada na indústria, pois fornece administração de diferentes suplementos nutricionais para o embrião, como, por exemplo, os aminoácidos, as vitaminas, os minerais, o glicerol, os prebióticos e os probióticos (SAEED *et al.*, 2019).

Anteriormente, para a manipulação da microbiota intestinal das aves, era comum o uso de antibióticos na ração como promotores de crescimento. Porém, devido à preocupação com a resistência de cepas bacterianas, outras possibilidades estão sendo avaliadas (YADAV; JHA, 2019). De acordo com Qu *et al.* (2008), a resistência aos antibióticos, como a tetraciclina e as fluoroquinolonas, foram de 25% a 31% nos animais. Os microrganismos presentes no trato gastrointestinal são de extrema relevância no desempenho dos animais, devido aos efeitos que proporcionam na

morfologia do intestino, na nutrição, nos patógenos que desencadeiam patologias intestinas e na resposta imune.

A microbiota encontrada no intestino tem finalidade única, mas depende da associação microbiana (QU *et al.*, 2008). Para Saeed *et al.* (2019), a nutrição *in ovo* auxilia na imunidade e no desenvolvimento do trato gastrointestinal dos frangos. Outro benefício da utilização da nutrição *in ovo*, está relacionado ao atraso na alimentação dos pintainhos, a qual ocorre durante a saída do incubatório até a chegada na granja, podendo prejudicar o seu desenvolvimento. Os efeitos dos compostos adicionados têm ação duradoura após o nascimento, principalmente na fase inicial em que os animais ficam em jejum nas primeiras horas de vida (SAEED *et al.*, 2019).

A produção de frangos de corte teve muitas mudanças ao longo dos anos. A nutrição precoce é um procedimento recente e promissor para os embriões (JHA *et al.*, 2019). Hoje, o período que se refere ao desenvolvimento embrionário está proporcionando pesquisas sobre diversos métodos e tipos de substâncias que podem ser inoculados nos ovos. Os probióticos tem papel importante na saúde intestinal dos animais. Dessa forma, objetivou-se a investigar os efeitos da inoculação *in ovo* do probiótico comercial, para avaliar a taxa de eclosão, a qualidade ao nascimento, a influência do probiótico no desenvolvimento dos órgãos, e a avaliação do desempenho zootécnico. Devido que, com a inoculação *in ovo* podemos obter uma ferramenta útil, não comprometendo a taxa de eclodibilidade, e a qualidade dos pintainhos nascidos, que são itens importantes para a sobrevivência dos animais nos primeiros dias de vida. Também, a influência do probiótico no desenvolvimento dos órgãos. E por fim, a avaliação zootécnica, que compreende principalmente a relação entre o peso dos animais e consumo de ração. Os valores zootécnicos são de extrema importância para a indústria avícola e bem como para os pequenos produtores, que possuem diversos desafios nas granjas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Desenvolvimento embrionário

Os programas de melhoramento genético avícola têm direcionado suas pesquisas para desenvolver linhagens cada vez mais precoces, e com bons resultados de desempenho. Desde a década de 50, a idade de abate teve redução de 40%, e o ganho de peso das aves dobrou (MOREIRA FILHO *et al.*, 2020). O período embrionário é de extrema importância para os animais, pois, em média, um frango vive 42 dias, e o seu tempo de incubação é de 21 dias, ou seja, a fase de incubação representa 33,3% da vida do animal (GONÇALVES *et al.*, 2013).

De acordo com Uni; Yadgary; Yair (2012), o crescimento e o desenvolvimento embrionário dos frangos são diferentes dos mamíferos em alguns aspectos. O embrião das aves depende dos nutrientes que contém no ovo. Apesar de ser bem definida a quantidade de nutrientes, não se sabe a taxa de absorção que ocorre durante o desenvolvimento.

As reações bioquímicas, ou em outro termo, as transformações dos nutrientes em energia que ocorre até o nascimento dos pintainhos, segundo Moran (2007), são divididas em etapas. A glicose tem papel fundamental no início até o desenvolvimento das membranas extraembrionárias.

O desenvolvimento das membranas, responsáveis pelo desenvolvimento e a sobrevivência, acontece na primeira semana de incubação. O saco vitelino, amnio, córion, e o alantoide, são incumbidos pela nutrição, pela respiração, e pela proteção, bem como pelo armazenamento de metabólitos embrionários (MOREIRA FILHO *et al.*, 2020).

Durante a incubação o cálcio é absorvido, enfraquecendo a casca do ovo, e possibilitando melhor a picagem na hora do nascimento. Esse mineral também é responsável pela mineração dos ossos. O restante dos nutrientes permanece no saco vitelino para a alimentação de emergência dos animais após o nascimento; a respiração pulmonar começa e o corioalantoide perde seu propósito (MORAN, 2007). A gema é a principal fonte alimentar para o embrião, composta principalmente por lipídios.

Após o nascimento, a dieta do pintainho passa por uma transição alimentar, baseada em alimentos sólidos, denominada por alimentação exógena, e composta basicamente por carboidratos e proteínas. Embora o saco vitelino ainda esteja aderido ao intestino, dando suporte nas primeiras horas de vida do animal, os pintainhos nascem com o intestino imaturo, podendo prejudicar o desenvolvimento e a resistência a patologias (UNI; FERKET, 2003). Vale ressaltar que a nutrição materna, e outros fatores como ambientais, doenças parasitárias e toxinas, dentre outros, podem afetar a eclodibilidade. A nutrição tem papel fundamental em todas as etapas no desenvolvimento embrionário, e o excesso e a falta podem acarretar em mortalidades (WILSON, 1997).

Para Uni; Yadgary; Yair, (2012), apesar da comunidade científica ter um amplo conhecimento sobre as dietas após o nascimento, pouco se sabe sobre a influência da nutrição *in ovo*.

## **2.2. Nutrição *in ovo* e probióticos**

A alimentação dos animais era baseada em suplementações na ração ou na água e, atualmente, a nutrição *in ovo* é uma opção que está sendo referenciada como alternativa para administração de probióticos na produção de frangos. A metodologia para aplicação *in ovo* implica na administração de uma solução, durante a incubação dos ovos (MADEJ; STEFANIAK; BEDNARCZYK, 2015, ADHIKARI; KIM, 2017).

A nutrição *in ovo*, de acordo com Bednarczyk *et al.* (2016), seria uma alternativa para a proibição dos antibióticos como promotores de crescimento. Esses produtos desencadearam o desenvolvimento de diversas patologias entéricas nos animais, causando prejuízos a indústria. A administração da nutrição *in ovo* favorece o animal, em virtude de combater prematuramente os microrganismos patogênicos, melhorando o desempenho dos frangos.

A utilização do probiótico na produção avícola, segundo Adhikari; Kim, (2017), proporciona melhorias na saúde intestinal, no sistema imunológico, e nos parâmetros de desempenho. O principal fator de tanto sucesso, deve-se ao fato da eliminação de patógenos como a *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, na produção. Os probióticos atuam benéficamente no organismo por exclusão competitiva, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas (PEDROSO; LEE, 2015).

Os animais são expostos continuamente a patógenos. Pan; Yu, (2014) relataram que os frangos entram em contato com os microrganismos após o nascimento, tornando um ambiente propício principalmente para o desenvolvimento de bactérias anaeróbicas. Contudo, pode ocorrer a contaminação por bactérias nos ovos em diferentes fases de incubação, e no nascimento dos pintainhos.

O isolamento de *Clostridium tertium* e de *Enterococcus* sp. demonstrou que as bactérias podem resistir à desinfecção dos ovos no incubatório, penetrando e contaminando os embriões (KIZERWETTER-ŚWIDA; BINEK, 2015). Entretanto, as pesquisas relacionadas com os benefícios da colonização inicial do intestino é remota, como foi referenciado pelos autores Barrow; Tucker, (1986) e Amit-Romach; Sklan; Uni, (2004). De acordo com Venema (2015), os microrganismos que colonizam o intestino são de extrema importância na saúde dos animais.

O sistema imunológico das aves é responsável por defender o corpo contra patógenos. Contudo, para que haja ativação do sistema imunológico e resistência a patologias, deve ocorrer declínio do desempenho. Para minimizar os efeitos negativos, e manter os níveis de desempenho, deve haver uma melhora na eficiência da produção e no bem-estar. A nutrição é um mecanismo que auxilia o sistema imunológico dos frangos (HUMPHREY, 2010), e os probióticos podem exercer atividade antimicrobianas, principalmente logo após a eclosão, quando o pintainho tem o sistema imunológico vulnerável (PRUDEN; ARABI; STORTEBOOM, 2012).

### **2.3. Saúde intestinal**

Para melhor compreensão sobre a saúde intestinal, é necessário compreender anatomicamente o trato gastrointestinal (TGI). Nos frangos o TGI começa no esôfago, e continua, nessa sequência: ingluvío, proventrículo, ventrículo, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (cecos, colón) e cloaca (MABELEBELE *et al.*, 2014). O microbioma do intestino é composto por trilhões de microrganismos que vivem em simbiose (OAKLEY *et al.*, 2014).

A medida em que as aves envelhecem, o microbioma se desenvolve gradativamente, até que o indivíduo chega em um estágio estável e dinâmico. De acordo com Pan; Yu, (2014), a passagem da digesta é mais rápida em comparação com os mamíferos, tornando a microbioma diferenciada. Existe relação entre o microbioma intestinal, o indivíduo e a dieta dos frangos.



O intestino dos animais é composto por uma microbiota que compreende a uma população de diversos microrganismos diferentes, e que vivem em um ambiente em particular. Alguns deles são as bactérias, os protozoários e os fungos. Entretanto, o microbioma é definido pela competência genética e pela diversidade ecológica (AAM, 2013).

A metodologia que manipula intencionalmente a microbiota por meio da administração de nutrientes, auxilia na saúde intestinal dos animais por impossibilitar a colonização de microrganismos patogênicos (KOGUT, 2019). De acordo com Crhanova *et al.* (2011), a primeira semana de vida dos frangos é considerada a mais relevante, pois nesta etapa ocorrem os eventos importantes no desenvolvimento do sistema imunológico. Inicialmente, ocorre processos inflamatórios no intestino, e após o 4º dia de vida o sistema imunológico começa a se estabilizar.

O princípio do conhecimento sobre a função e a interação do sistema imunológico e a microbiota, deve-se às pesquisas realizadas com os animais livres de germes. De acordo com Hooper; Littman; Macpherson (2012), para obter esse conhecimento, os animais são criados com a finalidade de controlar a exposição dos microrganismos. Os trabalhos podem ser realizados sobre o embasamento de duas técnicas; a utilização de animais microbiologicamente estéreis ou serem utilizados como tubo de ensaio *in vivo*. Desse modo, o intestino é manipulado, estabelecendo uma espécie ou definindo diferentes tipos de microrganismos. A técnica foi nomeada como gnotobióticos, termo grego que significa “vida conhecida”. Para Markowiak; Ślizewska (2018), a utilização dos probióticos na produção é seguro, pois não afeta negativamente o meio ambiente.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética e Uso Animal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus de Dois Vizinhos, sob o protocolo de nº 2019-25. As coordenadas geográficas da UTFPR são latitude 25°41'30”S, longitude 53°06'04”W e altitude de 47 m; com clima tipo cfa (subtropical úmido mesotérmico) com verão quente, sem estação seca estabelecida, com temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C, e o mais quente é superior a 22°C.

O experimento foi dividido em duas etapas. A primeira etapa foi realizada em um incubatório comercial, onde foram avaliados: a porcentagem de eclodibilidade, a

fertilidade, o embriodiagnóstico, o desenvolvimento dos órgãos ao nascimento e a qualidade dos pintainhos ao nascimento. Para a realização da segunda etapa do experimento, as aves foram encaminhadas para o aviário experimental da UTFPR, onde permaneceram por 21 dias, para avaliação do desenvolvimento dos órgãos e os valores zootécnicos.

Na primeira etapa do experimento, os ovos utilizados (Fotografia 1) foram adquiridos de um incubatório comercial, da cidade de Dois Vizinhos. A data de postura foi 8 de julho de 2020; lote de número 116/20; registro PR – 08807-2; número certificado 133/2020/PR; núcleo 1; GTAs origem 47329; série U UF: PR e vacina de New Castle no dia 8 de janeiro de 2020. Os ovos permaneceram no estoque por 5 dias. Foram descartados os não incubáveis e outros, como, por exemplo, os que estavam sujos, trincados, quebrados, pequenos ou deformados.

**Fotografia 1 - Ovos que foram selecionados para incubação**



**Fonte: Fernanda Delavy (2021)**

No total, foram utilizados 576 ovos férteis de matrizes de frangos de corte da linhagem Cobb, com 29 ou 30 semanas de idade. Os pesos dos ovos eram de 60 a 65 g. Os ovos foram incubados em um incubatório comercial, com comandos digital de controle de temperatura, de umidade e de viragem automática. Esse incubatório é específico para incubar ovos de cama, lavados, sujos e lixados.

Durante a incubação, os ovos foram colocados em bandejas identificadas por bandejas de acordo com o tratamento (controle, vacina e vacina + probiótico) a ser realizado no 19º dia de incubação, com capacidade de 96 ovos cada bandeja, totalizando os 576 ovos (Fotografia 2). Neste ensaio foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. O probiótico comercial utilizado é composto por 21 cepas

de bactérias, que foram selecionadas após diversas pesquisas, para auxiliar na saúde intestinal dos animais.

**Fotografia 2 - Bandejas antes da incubação.**



**Fonte: Fernanda Delavy (2021)**

A incubadora utilizada no experimento foi a de estágio múltiplo da marca CASP CMG 125. As bandejas foram distribuídas na parte superior para diminuir a possibilidades de contaminantes, pois os ovos contaminados podem se romper, contaminando os que estão em sua volta ou na parte inferior (Fotografia 3). Os demais espaços dentro da incubadora foram preenchidos com ovos que não fizeram parte do experimento. A máquina foi regulada com a temperatura de incubação 37,4°C.

**Fotografia 3 - Posição dos ovos dentro da incubadora**

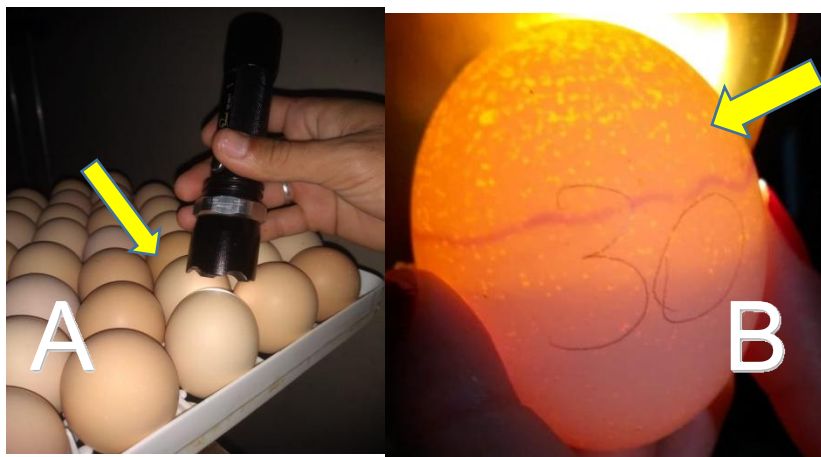


**Fonte: Fernanda Delavy (2021)**

### 3.1. Ovoscopia

No 14° dia de incubação, foi feita a ovoscopia (Fotografia 4A). Nessa etapa foram retirados os ovos “claros”, ou seja, os ovos inférteis ou com mortalidade inicial (Fotografia 4B) e ovos quebrados ou com rachaduras. A metodologia utilizada foi a mesma do incubatório, ou seja, os ovos são identificados por ausência de movimentação, quando exposto a luz. Após essa identificação, os dados foram registrados para a avaliação do embriodiagnóstico.

Fotografia 4 - Ovoscopia dos ovos (A). Mortalidade embrionária (B)



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

### 3.2. Descrição da vacinação *in ovo*.

No 19° dia de incubação todos os ovos passaram por processo de rotina do incubatório para a aplicação dos tratamentos, com a vacinadora automática (Fotografia 5A). Antes e depois da aplicação dos tratamentos, a vacinadora passou pelo processo de desinfecção e foi conferido o desempenho dos bicos da injetora. Os tratamentos foram aplicados conforme planejado na incubação.

Os tratamentos, dispostos no delineamento inteiramente casualizado, foram: controle (não foi aplicada nenhuma solução, sendo o controle), vacina (vacina Marek comercial *in ovo*), vacina + probiótico (vacina Marek comercial *in ovo* + probiótico) (Fotografia 5B).

A vacina foi preparada na sala de vacinação, seguindo todas as orientações da bula do fabricante. A vacina de Marek comercial estava armazenada dentro do botijão de nitrogênio a menos 196°C. Após retirada, a vacina foi colocada em banho maria e,

posteriormente, no diluente por meio de uma seringa (Figura 6). Foi utilizado 0,05 mL por/embrião.

**Fotografia 5 - Aplicação dos tratamentos com vacinadora (A). Bag com a vacina de Marek e o probiótico in ovo (B)**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

**Fotografia 6 - Preparação da vacina de Marek no diluente**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

No tratamento com o probiótico, foram administrados juntos a vacina de Marek, o diluente e o probiótico. A quantidade de probiótico utilizada foi de 0,005 mL/embrião. Totalizando 0,055 mL/embrião de vacina, diluente e probiótico.

Após a aplicação dos tratamentos o orifício feito pela vacinadora permaneceu aberto, como é normalmente realizado no incubatório (Fotografia 7A). Cada tratamento foi colocado em sua respectiva bandeja de nascimento (Fotografia 7B).

**Fotografia 7 - Perfuração in ovo da vacinadora automática (A). Os ovos posicionados na bandeja de nascimento (B)**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

Após o término da aplicação dos tratamentos, todas as bandejas foram colocadas no nascedouro e identificadas, conforme os tratamentos realizados na vacinadora (Fotografia 8). As bandejas ficaram posicionadas na parte da frente do nascedouro para facilitar o processo e mantidas na temperatura de 36,4°C e na umidade 65%. O restante foi preenchido com ovos que não faziam parte do experimento.

**Fotografia 8 - Bandejas dispostas no nascedouro.**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

### **3.3. Nascimento dos pintainhos**

No dia do nascimento, correspondente ao 21º dia de incubação (504 horas), foram retirados os pintainhos e realizada a sexagem manualmente de macho (Fotografia 9A) e de fêmea (Fotografia 9B) de cada tratamento. Também foi contado

a quantidade de pintainhos que nasceram (Fotografia 10A) e colocados novamente em bandejas identificados conforme os tratamentos realizados (Fotografia 10B). Posteriormente, foram deslocados até o aviário experimental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UNEPE de pequenos animais.

**Fotografia 9 - Sexagem de pintainhos ao nascimento, macho (A) e fêmea (B)**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

**Fotografia 10 - Pintainhos após a sexagem (A) e Contador com infravermelho (B).**



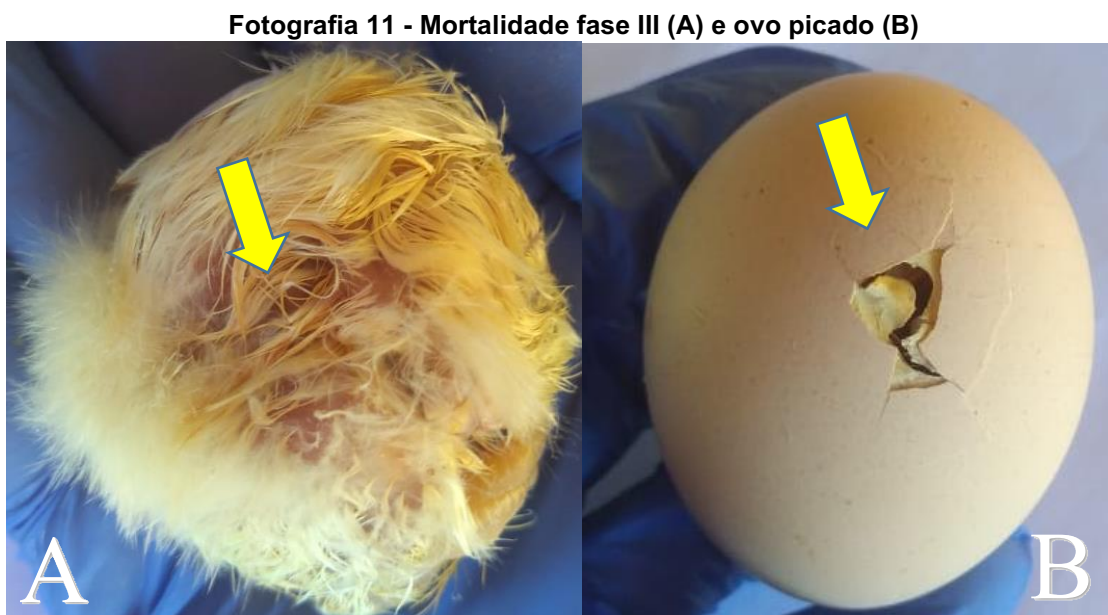
Fonte: Fernanda Delavy (2020)

### 3.4. Avaliação da taxa de eclosão total e do embriodiagnóstico

O embriodiagnóstico foi realizado nos ovos descartados na ovoscopia (14° dia de incubação) e nos ovos retirados do nascedouro (ovos que não eclodiram e/ou bicados) (BARBOSA, 2011). Conseqüentemente, para a caracterização foram separados os ovos em inférteis, mortalidade inicial 1° ao 4° dia de incubação (fase I);

ovos com mortalidade entre o 5° ao 17° (fase II); mortalidade final 18° a 21° dia (fase III) (Fotografia 11A); os bicados (Fotografia 11B) e os mal formados.

A taxa de eclosão total foi determinada após a retirada dos ovos “claros”, durante a ovoscopia no 14° dia de incubação, e durante a retirada dos ovos no nascimento (não eclodiram e/ou bicados). Esses ovos foram separados para a realização do embriodiagnóstico. A taxa de eclodibilidade total foi obtida através da relação do número de pintainhos nascido, dividido pelo número de ovos incubados, multiplicando por 100.



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

### 3.5. Qualidade dos pintainhos

A determinação do peso e do comprimento, e a avaliação da qualidade dos pintainhos, foram realizadas no aviário, individualmente. A qualidade foi determinada a partir da tabela 1, que representa diferentes tipos de parâmetros, que foram pontuados até 100 (TONA *et al.*, 2003). Dessa forma, primeiramente o animal foi pesado (Fotografia 12A), e com uma fita métrica foi medido o comprimento (Fotografia 12B), da ponta do bico até o dedo médio do membro inferior do pintainho. Em seguida macroscopicamente foram observadas as condições físicas, tais como: a atividade, a penugem, os olhos (Fotografia 13A), o umbigo (Fotografia 13A), a membrana remanescente, as pernas e as canelas.



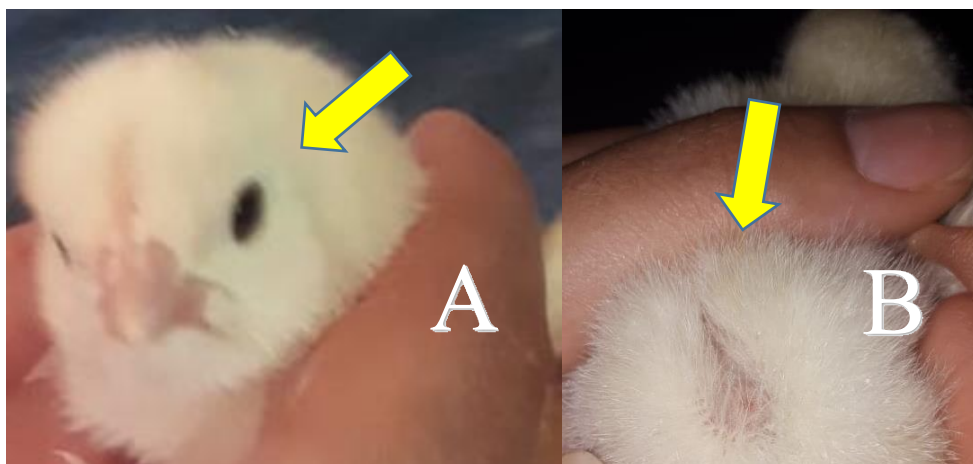
**Fotografia 12 - Avaliação do peso (A) e comprimento dos pintainhos ao nascimento (B)**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

Os níveis de qualidade estão relacionados diretamente com a sobrevivência dos animais na granja. Por isso, foram separados em categorias. Os pintainhos que somaram 100% foram considerados ótimos; de 80 a 99 foram bons; aqueles que pontuaram entre 50 a 79, foram considerados médio; e abaixo de 49 foram considerados ruins para a produção (GROFF-URAYAMA *et al.*, 2019).

**Fotografia 13 - Avaliação macroscópica nos olhos (A). Avaliação macroscópica no umbigo (B)**



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

**Tabela 1 - Parâmetros para a determinação da qualidade dos pintainhos**

<b>Variável</b>	<b>Definição</b>	<b>Característica</b>	<b>Escore</b>
<b>Atividade</b>	Averiguar após colocar o pintainho de costa. O retorno rápido é bom, se acaso demorar é fraco	Bom	16
		Médio	8
		Fraco	0
<b>Penugem</b>	A aparência deve-se ser limpa e seca. Quando estiver úmido e suja, ou ambas, é ruim.	Limpo e seco	12
		Limpo e úmido	6
		Sujo	0
<b>Olhos</b>	Averiguar seus olhos, o brilho e a extensão da pálpebra sobre o olho	Abertos e brilhantes	10
		Abertos e sem brilho	5
		Fechados	0
<b>Umbigo</b>	Avaliar o umbigo e ao redor, verificando o fechamento e a cor. Se a cor for diferente da tonalidade da pele, é má qualidade	Não completamente fechado, coloração normal	6
		Não fechado e coloração anormal	0
<b>Membrana Remanescente</b>	Na região do umbigo averiguar, o tamanho da membrana remanescente	Sem membrana	12
		Pequeno	6
		Grande	0
<b>Pernas</b>	O animal é posicionado em pé, para avaliar conformação dos dedos e a articulação do joelho	Pernas/dedos e articulações normais	10
		Uma perna/dedos e articulações afetadas	5
		Duas pernas/dedos e articulações afetadas	0
<b>Canelas</b>	Analisar o brilho e a cor da canela. A normal deve-se avermelhada e brilhante	Brilhante, avermelhada	16
		Brilhante, pálida	8
		Opaca, pálida	0

Fonte: (TONA *et al.*, 2003)

### 3.6. Pesagem dos órgãos para avaliação do desenvolvimento.

Após as avaliações, foram separados aleatoriamente 2 pintainhos por repetição (Fotografia 14) ou seja, 16 animais por tratamento. A realização da eutanásia ocorreu pelo método de deslocamento cervical. Esses animais foram utilizados para avaliar o desempenho dos órgãos.

A fase da coleta foi realizada no laboratório de Análise de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em Dois Vizinhos.

**Fotografia 14 - Amostra para realização da eutanásia**



**Fonte: Fernanda Delavy (2020)**

Para a avaliação foi pesado o animal inteiro, e o animal sem o saco vitelino. Posteriormente, para a remoção dos órgãos utilizou-se uma placa de petri na qual foi pesado individualmente o saco vitelino, proventrículo e ventrículo, coração, fígado, e todas as porções do intestino juntos (Fotografia 15A). Durante a pesagem dos órgãos foi utilizado a balança analítica com a capacidade de 220g e leitura mínima de 0,0001g, (Fotografia 15B).

**Fotografia 15 - Órgãos coletados para a pesagem (A). Pesagem do proventrículo e ventrículo, na balança analítica (B)**



**Fonte: Fernanda Delavy (2020)**

### 3.7. Avaliação do desempenho.

Na segunda etapa do experimento foi realizada a avaliação do desempenho utilizando 480 pintainhos, que foram conduzidos para o aviário experimental da Unidade de Ensino e Pesquisa, (UNEPE), de pequenos animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no Campus de Dois Vizinhos.

### 3.8. Galpão experimental

As aves permaneceram alojadas no galpão experimental. Foram separadas de acordo com o tratamento feito no incubatório, ou seja, 3 tratamentos com 8 repetições (por tratamento), totalizando 24 *boxes* com 20 aves cada, lote misto. O delineamento, inteiramente ao acaso, foi o mesmo aplicado na incubadora, assim como os tratamentos: controle), vacina, e a vacina + probiótico.

O aviário possui telhas de barro, mureta e cortinas laterais e tela antipássaros. Sendo que cada *box*, incluía um comedouro pendula e bebedouro tipo *nipple*. Para o aquecimento inicial dos pintainhos, foi utilizado campanulas elétricas com resistência (Fotografia 16).

Fotografia 16 - Campanulas elétricas (A)



Fonte: Fernanda Delavy (2020)

Foi utilizada uma ração comercial - fase inicial (tabela 2). Todos os frangos receberam água e alimento *ad libitum*. A cama utilizada foi a maravalha. Tanto o

programa de luz, como a temperatura e a umidade, seguiu as recomendações do manual da linhagem Cobb. Diariamente registraram os dados de temperatura e umidade de acordo com termohigrômetro instalado no aviário.

**Tabela 2 - Composição dos níveis de garantia da ração para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.**

Ingredientes, %	1 – 21 dias
Proteína bruta	22
Extrato etéreo	4,5
Cálcio	1,2
Fósforo	0,5
Matéria mineral	8
Fibra bruta	5
Umidade	12
Ácido fólico	0,24
Alumínio silicato	0,25
Biotina	0,82
Cobre	0,5
Colina	0,55
Ferro	0,5
Flúor	0,5
Iodo	0,2
Lisina	1,3
Manganês	6,1
Metionina	0,6
Niacina	6,45
Pantotenato de cálcio	1,3
Selênio	2,9
Sódio	0,2
Treonina	0,9
Vitamina B1	0,35
Zinco	7,9
Protease	20
Nircabazina	0,05
Monensina	0,05
Enramicina	0,01

Fonte: Fernanda Delavy (2020)

Durante o período experimental uma vez por semana, cada *box* foi avaliado, pesando todos os pintainhos e o comedouro, para posteriormente a avaliar o desempenho de cada tratamento. O período experimental a campo encerrou no 21 dia, após o nascimento.

Aos 21 dias de idade, duas aves por repetição foram submetidas eutanásia para coleta dos órgãos e comparação do desenvolvimento.

### 3.9. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de Modelo Linear Generalizado (GLM) para testes de dados com distribuição normal e Proc npar1way com Wilcoxon para dados não paramétricos obtida com o programa SAS.

Para as análises realizadas no incubatório, foi utilizado o teste de qui-quadrado, não paramétrico. Para avaliar as variáveis de peso ao nascimento, comprimento ao nascimento e o desenvolvimento dos órgãos, foi realizado teste ANOVA. Para avaliar as variáveis de qualidade entre os tratamentos (controle, vacina e vacina + probiótico), foi utilizado o teste de Wilcoxon.

Para os parâmetros de desenvolvimento dos órgãos aos 21 dias de vida e os valores zootécnicos, utilizou o Teste de ANOVA.

Para todos os testes foi utilizado como nível de significância  $p \leq 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

A Tabela 3 fornece os resultados da eclodibilidade, inférteis mortalidade e ovos bicados, após o período de incubação.

**Tabela 3 - Porcentagem de eclodibilidade após o período de incubação de 21 dias**

<b>Variáveis</b>	<b>Controle (%)</b>	<b>Vacina (%)</b>	<b>Vacina + Probiótico (%)</b>	<b>Valor de p</b>
Eclodibilidade	92,71	95,31	93,75	0,67
Inférteis	0,00	0,00	0,00	1,00
Mortalidade inicial	1,00	3,00	4,00	0,33
Mortalidade média	0,50	1,00	0,00	0,53
Mortalidade final	2,00	0,50	0,50	0,73
Mal formados	1,50	0,00	0,00	0,39
Bicados	2,00	0,50	1,50	0,84

**Expresso em porcentagem de ovos férteis n= 6 bandejas com 96 ovos por tratamento. Teste qui-quadrado não paramétrico.**

**Fonte: Fernanda Delavy (2020)**

De acordo com a Tabela 3, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), entre os tratamentos com relação às variáveis obtidas após a incubação, ou seja, tanto a vacina quanto a vacina mais o probiótico, proporcionaram taxas de eclodibilidade, de

mortalidade e ovos com defeitos, que não se diferem significativamente do grupo controle.

A Tabela 4 fornece o peso vivo ao nascimento e outras variáveis obtidas após o nascimento.

**Tabela 4 - Peso vivo ao nascimento, comprimento ao nascimento, peso ao nascimento sem o saco vitelino, peso do intestino ao nascimento, peso do saco vitelino, peso do fígado, peso do coração, e peso do estômago + moela**

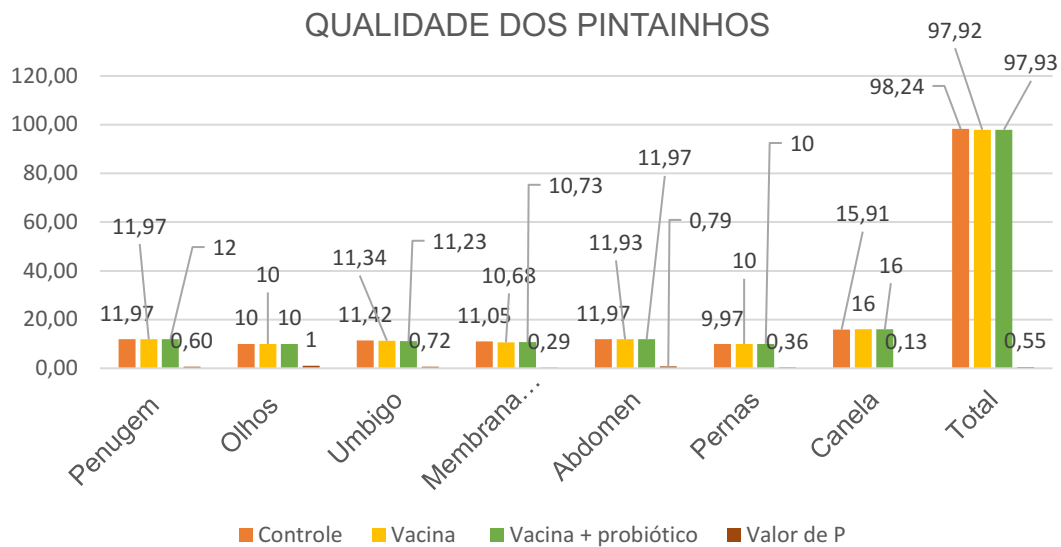
Variáveis	Controle	Vacina	Vacina + Probiótico	Valor de p
Peso ao nascimento (g)	42,43	42,06	41,93	0,75
Comprimento (cm)	20,17	20,26	20,15	0,73
Peso ao nascimento sem saco vitelino (g)	38,00	37,00	37,00	0,08
Peso do intestino ao nascimento (g)	2,00	1,93	2,12	0,14
Peso do saco vitelino (g)	3,93	4,49	4,51	0,21
Peso do fígado (g)	1,32	1,28	1,32	0,47
Peso do coração (g)	0,33	0,30	0,30	0,19
Peso do estômago + moela (g)	2,67	2,45	2,64	0,05

**Diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Para comparar as variáveis entre os tratamentos com relação ao peso ao nascimento, comprimento, peso ao nascimento sem saco vitelino, peso do intestino, peso do saco vitelino, peso do fígado, peso do coração, peso do estômago com a moela, foi utilizado o teste de ANOVA.**

**Fonte: Fernanda Delavy (2021)**

Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os três tratamentos com relação às variáveis associadas ao peso ao nascimento dos pintainhos (Tabela 4).

A Figura 1 fornece a análise de comparação quanto à qualidade dos pintainhos no dia do nascimento. Para comparar as associações entre os tratamentos com relação aos parâmetros de qualidade dos pintainhos foi utilizado o teste Wilcoxon não paramétrico.

**Figura 17 - Avaliação da qualidade nos nascimentos dos pintainhos**

**Fonte: Fernanda Delavy (2020)**

Segundo a Figura 1, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os três tratamentos também com relação aos parâmetros da qualidade.

A Tabela 5 fornece a análise estatística que comparou os tratamentos com relação aos pesos dos órgãos avaliados.

**Tabela 5 - Peso vivo e peso dos órgãos as ao aos 21 dias, peso do intestino aos 21 dias, peso do fígado aos 21 dias, peso do coração aos 21 dias, e peso do estômago + moela aos 21 dias**

Variáveis	Controle (g)	Vacina (g)	Vacina+ Probiótico (g)	CV (%)	Valor de p
Peso vivo	949,19	945,94	925,5	7,02	0,55
Peso do intestino	50,44	50,61	47,25	15,27	0,37
Peso do fígado	29,72	26,72	25,13	20,25	0,07
Peso do coração	6,80	6,47	6,52	21,47	0,78
Peso do estômago + moela	41,11	39,99	40,07	11,78	0,76

**Para comparar as variáveis: peso, peso do intestino, peso do fígado, peso do coração e o peso do estômago com a moela foi utilizado o Teste de ANOVA. CV Coeficiente de variação.**

**Fonte: Fernanda Delavy**

Por meio da Tabela 5, se observa que não foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos quanto aos diferentes pesos avaliados.

A avaliação de desempenho dos embriões submetidos a inoculação do probiótico conta na Tabela 6.



Tabela 6 - Avaliação de desempenho dos frangos aos 7, 14 e 21 dias de idade

Tratamento	Idade (dias)								
	7			14			21		
	CM R	GPM	CA	CM R	GPM	CA	CM R	GPM	CA
Controle	0,18	0,14	1,09	0,75	0,44	1,71	1,23	0,9	1,36
Vacina	0,18	0,14	1,1	0,75	0,44	1,7	1,21	0,89	1,36
Vacina + Probiótico	0,18	0,14	1,1	0,73	0,44	1,68	1,19	0,89	1,33
CV (%)	2,56	3,33	2,29	2,78	2,22	3,2	3,31	2,17	3,65
Valor de P	0,28	0,33	0,71	0,18	0,53	0,65	0,12	0,41	0,43

**Teste ANOVA, para a avaliar os parâmetros: Consumo Médio da Ração, kg (CMR), Ganho de Peso Médio, kg (GPM), e a Conversão Alimentar (CA), entre os tratamentos que foram aplicados no 19º dia de incubação. CV Coeficiente de variação.**

**Fonte: Fernanda Delavy**

Também não foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos quanto ao desempenho dos embriões (Tabela 6).

## 5. DISCUSSÃO

A utilização de aditivos *in ovo* durante a incubação tem sido o foco em pesquisas na área da avicultura, por promover resultados satisfatórios para a produção de frangos de corte (ARREGUIN-NAVA *et al.* 2020). As publicações baseadas na aplicação manual do probiótico *in ovo* têm pouca aplicabilidade para a indústria em geral (DE OLIVEIRA *et al.* 2014).

Diferente da maioria das pesquisas, o presente trabalho teve como base a tecnologia empregada nos incubatórios comerciais. Sendo usada para a avaliar a inoculação *in ovo* do probiótico comercial, na câmara de ar, em ovos férteis de frangos de corte.

Em estudo sinônimo ao avaliar a porcentagem de eclodibilidade, apenas o *Lactobacillus reuteri*, teve resultado eficiente no percentual de eclodibilidade (EDENS *et al.*, 1997). Contudo, atualmente o uso de probiótico tem demonstrado avanços positivos relacionados a eclodibilidade. No estudo presente, o percentual de eclodibilidade não foi afetada pela vacinação nos ovos férteis (Tabela 3). Em

concordância com Pender *et al.* (2016), que não obtiveram efeitos desejáveis na eclodibilidade em ovos que foram suplementados com probiótico *in ovo*.

Os resultados de Castañeda *et al.* (2020), após aplicar o probiótico *in ovo*, a base de *Enterococcus faecium*, também foram semelhantes aos resultados da presente pesquisa, pois não foram observadas diferenças significativas na porcentagem de eclodibilidade, na mortalidade inicial, média ou final, e entre os tratamentos em relação aos resultados de ovos bicados e inférteis.

Embora com alguns resultados positivos, a relação entre os microrganismos do intestino e do hospedeiro, e a relação entre os microrganismos, ainda são desafios para a melhor compreensão de aditivos usados na produção industrial (AJUWON, 2015).

Em relação ao desenvolvimento embrionário, a avaliação da qualidade dos pintainhos ao nascimento (Tabela 4), não houve diferença significativa, conciliando com os resultados de Beck *et al.* (2019), que avaliaram os efeitos dos probióticos *Lactobacillus animalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus animalis* com *Enterococcus faecium* e a vacina de Marek, como controle, não obtiveram diferença significativa entre os tratamentos.

As avaliações do peso vivo, peso do intestino, peso do fígado, peso do coração, e peso do estômago + moela, aos 21 dias e do desempenho dos embriões demonstraram que o probiótico testado não provoca alterações nesses parâmetros.

Os resultados obtidos na pesquisa divergem de outras pesquisas, fato já comentado por Miranda *et al.* (2021). Os autores, em sua revisão, afirmaram que apesar de ser técnica empregada em alguns incubatórios, maiores estudos são necessários para determinar quais nutrientes ou misturas de nutrientes devem ser usados na inoculação, para alcançar os benefícios almejados, pois os resultados apresentados ainda possuem divergências.

Outras pesquisas demonstraram que a inoculação *in ovo* pode não trazer benefícios em alguns parâmetros. Oakley *et al.* (2014), utilizando inoculação *in ovo* com *Bacillus subtilis*, verificaram que a inoculação com a bactéria não proporcionou melhora na morfologia intestinal das aves, e também não interferiu no desempenho das aves comparado com o grupo controle.

DAL'ALBA *et al.* (2020), afirmaram que a introdução de nutrientes em ovos férteis de matrizes pesadas tem potencial na avicultura, mas ainda há dúvidas sobre

questões, como, por exemplo, a eficiência do método, a resposta da aplicação em situações de desafio e os benefícios nos índices produtivos.

O fator de crescimento epidérmico, polipeptídeo de cadeia única de 53 aminoácidos encontrado no colostro e no leite de mamíferos, não teve efeito no desempenho do crescimento pós-nascimento e desenvolvimento intestinal em frangos de corte (KIM *et al.*, 2020). No entanto, outras pesquisas destacaram a ação dos probióticos ou prebióticos na nutrição *in ovo*. Slawinska *et al.* (2016), observaram aumento no ganho de peso das aves utilizando ovos incubados injetados com os prebióticos insulina sozinha ou em combinação com *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IBB2955, galacto-oligossacarídeos isoladamente ou em combinação com *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* IBB477; comparados com o grupo controle, o qual recebeu injeção simulada de soro fisiológico. Os galacto-oligossacarídeos foram os que promoveram melhores resultados. Beck *et al.* (2019), verificaram melhorias intestinais nas aves avaliadas com injeção nos ovos das bactérias prebióticas *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus animalis*, e Skjøt-rasmussen *et al.* (2019), testando uma cepa probiótica de *Enterococcus faecium*.

Alsultan *et al.* (2020), detectaram melhoria na qualidade de aves, utilizando combinação da técnica de injeção de óvulos com solução nutritiva e alimentação precoce dentro da incubadora. O uso dessa alimentação precoce na incubadora também levou a uma melhoria no desempenho produtivo de frangos de corte.

Dankowiakowska *et al.* (2019), relataram que ao testar a inoculação *in ovo* de prebióticos (inulina, prebiótico comercial e *Lactococcus lactis*) e de simbióticos (contendo suspensão bacteriana e solução prebiótica), no 12º dia de incubação de embriões de frango de corte que a utilização *in ovo* desses produtos proporcionou efeito positivo sobre o peso corporal das aves e a qualidade da carne.

Aplicação *in ovo* de vacina de Marek, e da vacina com *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus reuteri* ou *Lactobacillus rhamnosus*, proporcionaram aumentos significativos no coração, no fígado e no saco vitelino (LI *et al.*, 2021).

As diferenças nos resultados podem ter como causa principal, os produtos que foram usados em cada pesquisa.

Os resultados foram satisfatórios, porém mais pesquisas devem ser realizadas para a compreensão de algumas lacunas, principalmente sobre o efeito do probiótico no desenvolvimento dos órgãos.

## 6. CONCLUSÃO

Em vista dos argumentos apresentados, conclui-se com o presente trabalho que a inoculação com probiótico comercial *in ovo*, não afeta a porcentagem de eclodibilidade, a mortalidade, e o desenvolvimento dos órgãos durante a incubação e a qualidade dos pintainhos ao nascimento.

Concluimos que o desenvolvimento dos órgãos aos 21 dias de vida dos animais e os valores zootécnicos não foram afetados após a aplicação dos tratamentos. Sendo assim, a inoculação com o probiótico comercial que possui na sua composição diversas cepas bacterianas, não interferiu no desenvolvimento ou no desempenho dos animais à campo.

## 7. REFERÊNCIAS

- AAM (American Academy of Microbiology). Human Microbiome *In: \_\_\_\_\_ American Society for Microbiology*. Washington: [s. n.], 2013, p. 20.
- ADHIKARI, P. A.; KIM, W. K. Overview of prebiotics and probiotics: Focus on performance, gut health and immunity - a review. **Annals of Animal Science**. Walter de Gruyter GmbH, DOI: 10.1515/aoas-2016-0092, Oct. 2017.
- AJUWON, K. M. Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species. **Journal Applied of Poultry Research**. [S. l.] v. 25, n. 2, p. 277–283. 2015.
- ALSULTAN, O. M. *et al.* Effects of combining in ovo injection by nutritive solutions and early post-hatch nutrition on productive performance of broiler. **Plant Archives**. [S. l.] v. 20, n. 2, p. 1584-1591. 2020.
- AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, [S. l.] v. 83, n. 7, p. 1093–1098, Jul. 2004.
- ARREGUIN-NAVA, M. A. *et al.* In ovo administration of defined lactic acid bacteria previously isolated from adult hens induced variations in the cecae microbiota structure and Enterobacteriaceae colonization on a virulent *Escherichia coli* horizontal infection model in broiler chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, [S. l.] v. 7, p. 6483-6491. Aug. 2020.
- BARROW, P. A.; TUCKER, J. F. Inhibition of colonization of the chicken caecum with *Salmonella* Typhimurium by pre-treatment with strains of *Escherichia coli*. **Journal of Hygiene**, [S. l.] v. 96, n. 2, p. 161–169, Feb. 1986.
- BB, O. *et al.* The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS microbiology letters**, [S. l.] v. 360, n. 2, p. 100–112, 1, Nov. 2014.
- BECK, C. N. *et al.* The potential for inoculating *Lactobacillus animalis* and *Enterococcus faecium* alone or in combination using commercial in ovo technology without negatively impacting hatch and post-hatch performance. **Poultry Science**, [S. l.] v. 98, n. 12, p. 7050–7062, Dec. 2019.
- BEDNARCZYK, M. *et al.* Influence of different prebiotics and mode of their administration on broiler chicken performance. **Animal**, [S. l.] v. 10, n. 8, p. 1271–1279, Aug. 2016.
- CASTAÑEDA, C. D. *et al.* In ovo inoculation of an *Enterococcus faecium* – based product to enhance broiler hatchability, live performance, and intestinal morphology. **Poultry Science**, [S. l.] v. 99, n. 11, p. 6163–6172, Nov. 2020.
- CRHANOVA, M. *et al.* Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection. **Infection and**

**immunity**, [S. I.] v. 79, n. 7, p. 2755–63, Jul. 2011.

DAL'ALBA, G. M. *et al.* In ovo nutrition using honey: effects on hatchability, performance and carcass yields in broilers. **Research, Society and Development**, [S. I.] v. 9, n. 8, p.e43985178, Jun. 2020.

DANKOWIAKOWSKA, A. *et al.* Effects of in ovo injection of prebiotics and synbiotics on the productive performance and microstructural features of the superficial pectoral muscle in broiler chickens. **Poultry Science**, [S. I.] v. 98, n. 10, p. 5157–5165, Oct. 2019.

DE OLIVEIRA, J. E. *et al.* In ovo inoculation of chicken embryos with probiotic bacteria and its effect on posthatch *Salmonella* susceptibility. **Poultry Science**, [S. I.] v. 93, n. 4, p. 818–829, Apr. 2014.

EDENS, F. W. *et al.* Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, [S. I.] v. 76, n. 1, p. 179–196, 1997.

GONÇALVES, F. *et al.* In ovo nutrition: strategy for precision nutrition in poultry industry. **Archivos de zootecnia**, [S. I.] v. 62, n. 0, p. 54–55, Feb. 2013.

GROFF-URAYAMA, P. *et al.* Performance, intestinal morphometry, and incubation parameters of broiler chickens submitted to in ovo feeding with different techniques and amino acids. **Canadian Journal of Animal Science**, [S. I.] v. 99, n. 4, p. 732–740, 2019.

HOOPER, L. V.; LITTMAN, D. R.; MACPHERSON, A. J. Interactions between the microbiota and the immune system. **Science: American Association for the Advancement of Science**, [S. I.], v.8, n. 336, p. 1268-73, Jun. 2012.

HUMPHREY, B. D. Immunity lessons and actions: Practical implications. **Journal of Applied Poultry Research**, [S. I.] v. 19, n. 2, p. 174–181, Jul. 2010.

JHA, R. *et al.* Early Nutrition Programming (in ovo and Post-hatch Feeding) as a Strategy to Modulate Gut Health of Poultry. **Frontiers in Veterinary Science**, [S. I.] v. 6, n. 1, p. 82, Mar. 2019.

KIZERWETTER-ŚWIDA, M.; BINEK, M. Bacterial microflora of the chicken embryos and newly hatched chicken. **Journal of Animal and Feed Sciences**, [S. I.] v. 17, p. 224-232, Jul 2015.

KIM, E. *et al.* In ovo feeding of epidermal growth factor: embryonic expression of intestinal epidermal growth factor receptor and posthatch growth performance and intestinal development in broiler chickens. **Poultry science**, [S. I.] v. 99, n. 11, p. 5736–5743, Nov. 2020.

KOGUT, M. H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, [S. I.] v. 250, p. 32–40, Apr. 2019.

LI, T. *et al.* Effects of in ovo probiotic administration on the incidence of avian pathogenic *Escherichia coli* in broilers and an evaluation on its virulence and antimicrobial resistance properties. **Poultry science**, [S. I.] v. 100, n. 3, Mar. 2021.

MABELEBELE, M. *et al.* Comparison of gastrointestinal tracts and pH values of digestive organs of ross 308 broiler and indigenous venda chickens fed the same diet. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, [S. I.] v. 9, n. 1, p. 71–76, 2014.

MADEJ, J. P.; STEFANIAK, T.; BEDNARCZYK, M. Effect of *in ovo* delivered prebiotics and synbiotics on lymphoid-organs' morphology in chickens. **Poultry Science**, [S. I.] v. 94, n. 6, p. 1209–1219, Jun. 2015.

MARKOWIAK, P.; ŚLIZEWSKA, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. **Gut Pathogens**, BioMed Central Ltd., [S. I.] v. 10, n.21, p. 1-21, Jun. 2018.

MIRANDA, H. A. F. *et al.* Efeitos da nutrição in ovo no desempenho de frangos de corte: uma revisão. **Research, Society and Development**, [S. I.] v. 10, n. 2, p. e38810212307, Feb. 2021.

MORAN, E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. **Poultry Science**. Poultry Science Association, [S. I.] v. 86, n.5, p.1043-1049, May 2007.

MOREIRA FILHO, A. L. B. *et al.* Chicken embryo development: metabolic and morphological basis for in ovo feeding technology. **Poultry Science**, [S. I.] v. 99, n. 12, p. 6674-6782, Oct. 2020.

OAKLEY, B. B. *et al.* The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, [S. I.] v. 360, n. 2, p. 100–112, Nov. 2014.

PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**, [S. I.] v. 5, n. 1, p. 108–19, Jan 2014.

PEDROSO, A. A.; LEE, M. D. The composition and role of the microbiota in chickens. *In: \_\_\_\_\_*. **Intestinal Health**. [S. I.]: Wageningen Academic Publishers, 2015. Chapter 2, p. 21–50.

PENDER, C. M. *et al.* In ovo supplementation of probiotics and its effects on performance and immune-related gene expression in broiler chicks. **Poultry Science**, [S. I.] v. 96, n. 5, p. pew381, Oct. 2016.

PRUDEN, A.; ARABI, M.; STORTEBOOM, H. N. Correlation between upstream human activities and riverine antibiotic resistance genes. **Environmental Science & Technology**, [S. I.] v. 46, n. 21, p. 11541–11549, Nov. 2012.

QU, A. *et al.* Comparative metagenomics reveals host specific metavirulomes and horizontal gene transfer elements in the chicken cecum microbiome. **PLOS ONE**, [S. I.] v. 3, n. 8, p. e2945, Aug. 2008.

RECK, Â. B.; SCHULTZ, G. Aplicação da metodologia multicritério de apoio à decisão

no relacionamento interorganizacional na cadeia da avicultura de corte<sup>1</sup>. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, [S. l.] v. 54, n. 4, p. 709–728, Nov 2016.

SAEED, M. *et al.* *In ovo* delivery of various biological supplements, vaccines and drugs in poultry: current knowledge. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S. l.] v. 99, n. 8, p. 3727–3739, Jun. 2019.

SCHMIDT, N. S.; DA SILVA, C. L. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, [S. l.] v. 56, n. 3, p. 467–482, Jul. 2018.

SKJØT-RASMUSSEN, L. *et al.* Post hatch recovery of a probiotic *Enterococcus faecium* strain in the yolk sac and intestinal tract of broiler chickens after *in ovo* injection. **FEMS Microbiology Letters**, [S. l.] v. 366, n. 7, p. fnz078, Apr. 2019.

SLAWINSKA, A. *et al.* Long-Term Transcriptomic Effects of Prebiotics and Synbiotics Delivered *In Ovo* in Broiler Chickens. **PLOS ONE**, [S. l.] v. 11, n. 12, p.1-21, dez. 2016.

TONA, K. *et al.* Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. **Poultry Science**, [S. l.] v. 82, n. 5, p. 736–741, 2003.

UNI, Z.; FERKET, R. P. **Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding** - Google Patents. Depositante: United States patente; Patent No.: US 6,592,878 B2. Depósito: 15 jul. 2003. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/a8/e2/6e/afc2cb87ff06a1/US6592878.pdf>. Acesso em: 15 out. 2020.

UNI, Z.; YADGARY, L.; YAIR, R. Nutritional limitations during poultry embryonic development. **Journal of Applied Poultry Research**, [S. l.] v. 21, n. 1, p. 175–184, Mar. 2012.

VENEMA, K. Foreword - there is still tremendous interest in probiotics and prebiotics. **Beneficial Microbes**, [S. l.] v. 6, n. 1, p. 1–2, Jan. 2015.

WILSON, H. R. Effects of Maternal Nutrition on Hatchability. **Poultry Science**, [S. l.] v. 76, n. 1, p. 134–143, Jan. 1997.

YADAV, S.; JHA, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. [S. l.] v. 10, n. 2, Jan. 2019.