

Kuluçkada Yumurta İçi (In Ovo) Besleme Uygulamaları

Arda Sözcü*, Barışcan Curabay

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Görükle, Bursa

*e-posta: ardasozcu@uludag.edu.tr; Tel: +90 (224) 294 1561; Faks: +90 (224) 442 8152

Özet

Damızlık işletmelerde kuluçkada çıkış gücünde sağlanacak bir birim artış önemli bir ekonomik değer ifade eder. Yumurta içerisine çeşitli besin maddelerinin verilmesi damızlıkçı ve kuluçka işletmeleri için kuluçkada çıkış gücünün artmasına, çıkış sonrası yüksek yaşama gücü ve performansın sağlanmasına imkan tanır. Bu nedenle, kuluçka döneminde kanatlı embriyolarına uygulanan in ovo besleme yöntemi son yıllarda gündeme gelen alternatif bir uygulamadır. Yumurta içi besleme olarak da bilinen bu yöntem, kuluçkanın herhangi bir döneminde embriyoların amniyon ya da sarı keseleri içerisine amino asit, karbonhidrat, organik asit, vitamin, antikor, hormon gibi farklı maddelerin solüsyon şeklinde enjeksiyonu ile uygulanmaktadır. In ovo besleme ile çıkış öncesi ince bağırsağın işlevsel hale gelmesi, sindirim kapasitesinin artması ve villüslerin yüzey alanının genişlemesi amaçlanmaktadır. Ayrıca bu uygulamalar çıkış gücünün yükselmesine, çıkış sonrası civcivin yemden daha etkin yararlanmasına, çıkış sonrası ilk hafta civciv ölümlerinin azaltılmasına, erken dönem hastalıklarının önlenmesine, bağışıklık sisteminin, iskelet sisteminin ve enzim aktivitesinin geliştirilmesine yönelik birçok amaçla yapılabilmektedir. Bu derlemede, kuluçkada in ovo besleme yöntemi, bu yöntemin avantajları, verilebilecek besin maddeleri ve bunların etkileri hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kuluçka, in ovo, embriyo, amniyon, sarı kesesi

In Ovo Feeding Practices During Incubation

Abstract

In breeding companies, a unit increase in hatchability of fertile eggs has a significant economic value. Supplying various nutrients into egg allows increasing of hatchability of fertile eggs for breeder companies and also hatcheries with a higher survival rate and post-hatch broiler performance. Therefore, in ovo feeding methods that are applied for embryos during incubation period has gained importance as an alternative feeding method in recent years. In ovo injection that is also known feeding of embryos in eggs, is applied by injection of various materials such as amino acid, carbohydrates, organic acid, vitamins, antibody, hormone in the form of solution into amnion or yolk sac of embryos at any time during incubation. In ovo feeding mainly aims to become functional of intestine, improve of digestive capacity and widen of surface area of villus before hatching process. Furthermore, this method is applied with many other aims like improving hatchability of fertile eggs and feed conversion rate, reducing first week chick mortalities, preventing early term diseases, improving of immune system, skeletal system and enzyme activities. In this review, in ovo feeding methods during incubation, advantages of this practice, the nutrients that inject with this method and the effects of these nutrients are explained.

Key words: Incubation, in ovo, embryo, amnion, yolk sac

Giriş

Kanatlı yetiştiriciliğinde çıkış günü civcivlerin kaliteli ve sağlıklı oluşu, yaşamlarının daha sonraki dönemlerinde yaşama gücü ve çıkış sonrası performansları bakımından büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan kanatlılarda yüksek verimin sağlanabilmesi için civcivin çıkış sonrası en kısa sürede yem ve suya ulaşması sağlanmalıdır. Civcivin çıkış sonrası hemen yeme ve suya ulaşması sindirim sistemi gelişimi açısından önemlidir (Özcan ve Demir, 2009). Bu yüzden kanatlı yetiştiriciliğinde çıkış sonrası erken dönem besleme uygulamaları gündeme gelmiş olmakla beraber, kuluçka döneminde de embriyonun besin

takviyesi yapılması yönünde yeni yaklaşımlar ortaya çıkmıştır (Eisa Beiglou, 2010). Kuluçka başarısını artırmaya yönelik yumurta içerisine çeşitli besin maddelerinin verilmesi tavukçuluk şirketlerine alternatif bir yöntem olarak önem kazanmıştır (Ohta ve ark., 2001).

In Ovo Besleme Tekniği

Son yıllarda gündeme gelen yumurta içi besleme tekniği olarak bilinen in ovo besleme yöntemi, kuluçkanın herhangi bir döneminde protein, vitamin gibi besin maddelerinin ve hormon, antikor gibi çeşitli maddelerin embriyonik keselere sıvı solüsyon formunda enjekte edilmesi ile uygulanan bir yöntemdir (Herfiana, 2007).

Bu yöntemin başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için, embriyo gelişiminin ve embriyo fizyolojisinin iyi bir şekilde bilinmesi gerekmektedir. Bu uygulamalar embriyonun çıkış öncesi besin maddelerine ulaşımını sağlamakta, başta sindirim sistemi gelişimi olmak üzere birçok parametre üzerine olumlu etkileri belirlenmiştir (Uni ve Ferket, 2004).

In Ovo Besleme Uygulamasının Sağladığı Avantajlar

In ovo uygulamaları kuluçkada farklı amaçlar doğrultusunda uygulanmaktadır. Bu teknik çıkış gücünün artırılması (Tako ve ark., 2004), civcivlerin çıkış öncesi aşılınması, sindirim kapasitesinin artırılması ve bağırsak gelişiminin sağlanması (Uni ve Ferket, 2003), iskelet sistemi (Hargis ve ark., 1989) ve bağışıklık sisteminin (Gore ve Qureshi, 1997; Jochemsen ve Jeurissen, 2002) geliştirilmesi, çıkış sonrası canlı ağırlık ve yemden yararlanmanın iyileştirilmesi (Ohta ve ark., 1999; Bhanja ve ark., 2004), ilk hafta ölümlerin azaltılması (Uni ve Ferket, 2004), kas gelişiminin artırılması (Hajihosaini ve Mottaghitlab, 2004) gibi birçok farklı amaç için bu teknik kullanılmaktadır.

In Ovo Besin Madde Uygulamaları ve Etkileri

Civcivin çıkış sonrası ilk günlerde besin maddelerini optimum şekilde kullanması sağlıklı bir başlangıç yapabilmesi ve erken dönem performansı açısından oldukça önemlidir. Bu açıdan çıkış günü ve çıkış sonrası erken dönemde civciv yeterli ve gerekli besin maddeleri rezervine sahip olmalıdır. Civcivin besin madde ihtiyaçları in ovo teknolojisinde göz önüne alınmalı ve bu teknolojiyle hedeflenen amaca uygun besin maddeleri enjeksiyon edilmelidir. Bu uygulamalar, genellikle kuluçkanın 17 ile 21.günleri arasında geç embriyonik dönem ya da çıkış öncesi dönemde uygulanmaktadır (Uni ve ark., 2005; Ohta ve ark., 2001). Mesela, kuluçkanın son döneminde organik asitlerin yumurta içine enjekte edilmesiyle, civcivlerin sindirim sisteminde arzu edilen bakteri kolonizasyonu civciv henüz yumurta içindeyken sağlanmış olur (Gonzales ve ark., 2003).

Kuluçka döneminin sonuna doğru kanatlı embriyoları çıkış işlemi için gerekli olan glukoz ihtiyaçlarını karşılamak üzere enerji kaynaklarını kullanırlar (Christensen ve ark., 2001). Kanatlılarda en büyük glikojen kaynağı karaciğer ve glikolitik kaslardır (John ve ark., 1988). Kuluçka döneminde glikojen kaynağının yetersiz olması durumunda, embriyo glukoneojenez olayı için kas proteinlerini kullanmakta, bunun

sonucunda ise çıkış öncesi embriyo ve çıkış sonrası civciv gelişim ve büyümesi kısıtlanmaktadır (Uni ve ark., 2005). Uni ve ark. (2005) tarafından yapılan bir araştırmada, kuluçkanın çıkış döneminde etlik piliç embriyoların amniyon sıvılarına karbonhidrat katkısının glikojen kaynağını artıracığı ve kas proteinlerinin glikojen üretimine karşı korunacağı ileri sürülmüştür. Bu amaçla embriyolara kuluçkanın 17.günüden sonra maltoz, sükröz, dekstrin ve β -hidroksi- β -metilbütirat içeren solüsyon enjekte edilmiştir. Çalışmanın sonunda, in ovo uygulanan grupta civciv çıkış ağırlığının kontrol grubuna göre %5-6 oranında daha yüksek, karaciğer glikojen rezervinin 2-5 kat daha fazla olduğu ve göğüs kası oranında %6-8 oranında artış görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmada in ovo uygulanan gruptan elde edilen civcivlerin çıkış günü in ovo uygulanmayan gruba göre civciv ağırlıkları arasında gözlenen 2 g farklılığın, 25 günlük yaşa gelindiğinde yaklaşık 60 g'a yükseldiği belirlenmiştir. Ayrıca, β -hidroksi- β -metilbütirat enjeksiyonunun protein sentezi artışını ve protein parçalanmasını azalttığından hücre proliferasyonu üzerine doğrudan artırıcı etkisinin olduğu bildirilmektedir (Siwicki ve ark., 2000).

Farklı oranlarda glikozun (5, 10, 15 mg) kuluçkanın 18.gününde broiler damızlık yumurtalarına enjeksiyonunun çıkış gücü, civciv ağırlığı ve daha sonraki canlı ağırlık üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmanın sonucunda, düşük seviyeli glikoz uygulamasının çıkış gücünü artırdığı bildirilmiştir (İpek ve ark., 2004). Ayrıca, in ovo karbonhidrat enjeksiyonunun ince bağırsak gelişimi ve enterosit fonksiyonu üzerine artırıcı etki yaptığı (Tako ve ark., 2004; Uni ve Ferket, 2004), ayrıca çıkış sonrası 3 gün süresince villüs yüzey alanının %21'den %27'ye artırdığı ve goblet hücrelerinde asidik ekspresyonunda kademeli artışın yanı sıra ince bağırsak üzerine besleyici ve goblet hücreleri üzerine ise geliştirici etkiye sahip olduğu (Smirnov ve ark., 2006) yapılan araştırmalar sonucunda bildirilmiştir.

Civciv gelişimi ve çıkış sonrası canlı ağırlık kazancı üzerine protein büyük öneme sahiptir. Ancak çıkış sonrası civcivin temel besin kaynağı olan sarı kesesi, yağ bakımından zengin bir kaynak olmakla beraber, protein bakımından yetersiz bir kaynaktır (Al-Murrani, 1982). Protein yetersizliğinin olduğu durumlarda civciv çıkış ağırlığı ve çıkış sonrası canlı ağırlık ve canlı ağırlık kazancı olumsuz yönde etkilenmektedir (Eisa Beiglou, 2010). Bunun yanı sıra, rasyonda kaliteli ve yüksek miktarda protein ve amino asit kullanımı maliyeti artırdığından, kuluçka döneminde protein ya da

amino asit enjeksiyonu gündeme gelmiştir.

Amino asitlerin in ovo ile enjeksiyonu uygulamalarında amino asitler arjinin, threonin gibi tek başına kullanılabilirdiği gibi, esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit karışımları şeklinde de uygulanabilmektedir (Gaafar ve ark., 2013). Ohta ve ark. (1999) broiler yumurtalarına amino asit enjeksiyonu ile elde edilen civcivlerin hem çıkış günü hem de çıkış günü 56 günlük yaşta kontrol grubu civcivlere göre daha yüksek canlı ağırlığa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Amino asit verilen embriyoların çıkış sonrası 7 günlük yaşta daha yüksek canlı ağırlığa sahip olması, bu embriyoların sarı keselerinde daha yüksek düzeyde amino asit içerdiği ya da bu embriyoların amino asitlerden daha iyi yararlandığı şeklinde açıklanmıştır (Ohta ve ark., 2001). Kadam ve ark. (2008), kuluçkanın 14.gününde broiler yumurtalarına threonine amino asit enjeksiyonunun civciv ağırlığında %1.6 artış ve çıkış sonrası 7.gün canlı ağırlık ve yemden yararlanma oranında iyileşme ile sonuçlandığını saptamıştır.

Embriyonun yeterli ve istenen derecede gelişiminin ağırlanması yumurtanın besin madde içeriğine bağlıdır (Vieira, 2007). Kuluçka döneminde embriyonun vitamin ve mineral madde bakımından yetersizliğe maruz kalması embriyo gelişimini olumsuz yönde etkilemekle beraber, embriyonun yaşama gücünün düşmesine neden olur (Richards ve Steele, 1987). Embriyolar mineral maddeleri korio-allantoik dolaşımın başlamasından sonra temel olarak sarı ve yumurta kabuğunda karşılıklıdır. Özellikle iskelet sistemi gelişimi başta olmak üzere birçok fonksiyona sahip olan kalsiyum, fosfor, magnezyum, bakır ve çinko gibi mineral maddeler sarı ve kabuktan karşılanmaktadır. Ayrıca, vitaminler de embriyonal gelişim döneminde önemli fonksiyonlara sahip olup, eksiklikleri bir takım olumsuzlukların görülmesine neden olmaktadır. Damızlık sürülerin yaşlanmasıyla, yüksek çıkış gücü ve kaliteli civciv üretiminin sağlanması için biyotin ihtiyacı artmakta olup, biyotinin yetersizliği embriyo gelişimine olumsuz yönde etki etmektedir. Robel (2002), hindi yumurtalarına biyotin, folik asit ve piridoksin enjeksiyonunun çıkış gücünü artırdığını bildirmiştir. Bunun yanı sıra, hindi yumurtalarının çıkış gücü üzerine vitamin etkilerinin incelenmesi amacıyla piridoksin ve pantotenik asit gibi vitaminlerin kuluçka sırasında yumurtaya enjeksiyonu da gerçekleştirilmiştir (Robel ve Christensen 1991; Robel, 1993).

Günümüzde broiler yetiştiriciliğinde, yüksek verimli hatların kullanılmasıyla, civciv embriyoları kuluçka döneminin ikinci yarısı boyunca aşırı ısı üretimine

neden olduğundan bu embriyolar ısı stresine maruz kalmakta ve sonuç olarak geç dönem embriyonik ölümler artış göstermektedir. Bu nedenle, antistres faktörü olarak bilinen askorbik asidin (Brake ve Pardeu,1998) in ovo enjeksiyonunun ısı stresi üzerine etkileri araştırılmıştır. Elibol ve ark. (2001), 70 gram ağırlığa sahip yumurtalara kuluçkanın 13. gününden sonra 3 mg askorbik asit enjeksiyonunun geç dönem embriyo ölümlerini önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Benzer şekilde İpek ve ark. (2004) kuluçkanın 13.gününde broiler yumurtalarına farklı dozlarda askorbik asit içeren tuzlu solüsyon (1, 3, 5, 7 mg askorbik asit) enjekte etmişler ve çalışma sonunda askorbik asit enjeksiyonunun çıkış gücü üzerine etkisinin önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Ticari kanatlı yetiştiriciliğinde, performans ile bağışıklık durumu arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır (Sarica ve ark., 2009). Kanatlı hayvanlarda bağışıklık sistemi kuluçka döneminde gelişmeye başlamaktadır. Civcivler kuluçka dönemi süresince yumurta sarısından beslenir ve yumurta sarı kesesi kalıntısı anadan gelen antikorların ana kaynağıdır (Larsson ve ark., 1993). Bu antikorlar yumurta kesesinden kan dolaşımına katılarak, mikroorganizmaların vücut içerisine kolayca girebildikleri alanlara dağılarak, koruma sağlamaktadır. Yetersiz ve dengesiz beslenme durumunda, bağışıklık sistemi zayıflamakta ve buna bağlı olarak metabolizma ve performanslarında gerileme görülebilmektedir.

Civcivlerin bağışıklık sistemini geliştirmek için in ovo enjeksiyon uygulamalarının etkilerini araştıran çalışmalar sınırlı sayıda olup, E vitaminin in ovo yöntemiyle uygulanması çıkış sonrası civcivlerin bağışıklık sistemi üzerine yararlı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Gore ve Quereshi (1997) tarafından 18 günlük embriyoların amniyon sıvılarına 10 IU vitamin E enjeksiyonu uygulanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarının sonunda E vitamini enjekte edilen yumurtalardan çıkan civcivlerde sellular ve humoral bağışıklığın vitamin E enjekte edilmeyen gruba göre daha yüksek seviyede geliştiğini saptamışlardır.

Sonuç

Kanatlılarda kuluçka döneminde embriyonun tek besin kaynağı yumurta sarısıdır. Başarılı kuluçka faaliyetleri, civciv kalitesi ve çıkış sonrası performansı maksimum düzeyde sağlanabilmesi için embriyonun gerek kuluçka döneminde gerekse çıkış sonrası ilk günlerde sarı kesesinden etkin bir şekilde yararlanması önem taşımaktadır. Yumurta sarısının besin madde içeriği damızlık yaşından etkilenmekte ve besin madde

içeriğinde görülen değişimler embriyo gelişimi, kuluçka sonuçları, civciv kalitesi ve çıkış sonrası performansını etkileme potansiyeline sahiptir. Diğer yandan, sarı kesesinin embriyo tarafından kullanımı damızlık yaşı, kuluçka koşulları gibi birtakım faktörlerden etkilenmektedir. Bu noktada hem sarı kesesi besin madde içeriğinde hem de sarı kesesinin kullanımında görülen değişimlerin ve bunların kuluçka ve çıkış sonrası performansı üzerine etkilerinin belirlenerek, bu aksaklıkların giderilebilmesi için in ovo besleme uygulamaları önem kazanmaktadır. Bu nedenle, farklı besin maddelerinin in ovo enjeksiyonunun civcivlerde sindirim, iskelet, kas, bağışıklık sistemi, çıkış sonrası performans gibi birçok parametre üzerine etkilerinin araştırılması kuluçka ve kanatlı yetiştirme uygulamaları açısından faydalı olacaktır.

Kaynaklar

- Al-Murrani, W. K. 1982. Effect of injecting amino acids in to the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic Fowl. *British Poultry Science* 23: 171-174.
- Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Goswami, T.K. 2004. Effect of in ovo injection of amino acids on growth, immune response, development of digestive organs and carcass yields of broilers. *Indian J. Poult. Sci.* 39: 212-218.
- Brake, J., Pardue, S.L. 1998. Role of ascorbic acid in poultry nutrition. *Proceedings of 10th European Poultry Conference, Jerusalem, Israel*, p. 63-67.
- Christensen, V.L., Wineland, M.J., Fassenko, G.M., Donaldson, W.E. 2001. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. *Poultry Science* 80: 1729-1735.
- Eisa Beiglou, R. 2010. Kanatlılarda in ovo besleme uygulamalarının bağırsak gelişimi ve performans üzerine etkileri. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi* 9(1): 34-40.
- Elibol, O., Türkoğlu, M., Akan, M., Erol, H. 2001. İnkübasyon sırasında ağır yumurtalara askorbik asit enjeksiyonunun kuluçka özelliklerine etkisi. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 25: 245-248.
- Gaafar, K.M., Selim, S.A., El-ballal, S.S. 2013. Effect of in ovo administration with two levels of amino acids mixture on the performance of Muscovy ducks. *Animal Science* 25(1): 58-65.
- Gonzales, E., Oliviera, A.S., Cruz, C.P., Leandro, N.S.M., Stringhini, J.H., Brito, A.B. 2003. In ovo administration of butyric acid to broiler embryos. *Proceedings of the 14th European Symposium on Poultry Nutrition, Oslo, Norway*, p. 97-99.
- Gore, A.B., Qureshi, M.A. 1997. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. *Poult. Sci.* 76: 984-991.
- Hajihosaini, M., Mottaghitalab, M. 2004. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on hatchability and growth of hatched chicken. *J. Agric. Sci.* 1: 23-32.
- Hargis, P. S., Pardue, S. L., Lee, A.M., Sandel, G.W. 1989. In ovo growth hormone alters growth and adipose tissue development of chickens. *Growth Devel. Aging.* 53: 93-99.
- Herfiana, I. M. 2007. The effect of glutamine, dextrin and its combination through in ovo feeding on immune response, blood profiles and the carcass composition of male broiler chicken. *Msc thesis. Sekolah Pascasarjana, Institute pertanin, Bogor.*
- İpek, A., Sahan, U., Yılmaz, B. 2004. The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. *Arch. Geflügelk.* 68(3): 132-135.
- Jochemsen, P., Jeurissen, S.H.M. 2002. The localization and uptake of in ovo injected soluble and particulate substances in the chicken. *Poult. Sci.* 81: 1811-1817.
- John, T.M., George, J.C., Moran, Jr. E.T. 1988. Metabolic changes in pectoral muscle and liver of turkey embryos in relation to hatching: influence of glucose and antibiotic treatment of eggs. *Poultry Science* 67: 463-469.
- Kadam, M.M., Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Thakur, R., Vasan, P., Bhattacharyya, A., Tyagi, J.S. 2008. Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 49: 736-741.
- Larsson, A., Balow, R.M., Lindahl, T.L. and Forsberg, P.O. 1993. Chicken antibodies: taking advantage of evolution- A Review. *Poultry Sci.* 72: 1807-1812.
- Ohta, Y., N. Tsushima, K. Koide, M.T. Kidd, Ishibashi, T. 1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poultry Science* 78: 1493-1498.
- Ohta, Y, Kidd, M.T., Ishibashi, T. 2001. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. *Poultry Science* 80: 1430-1436.
- Özcan, M.A., Demir, E. 2009. Kanatlılarda in ovo besleme. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 30 Eylül-03 Ekim, Çorlu, Tekirdağ.
- Richards, M.P., Steele, N.C. 1987. Trace element metabolism in the developing avian embryo: a review. *Journal of Experimental Zoology* 1: 39-51.
- Robel, E.J. 1993. Evaluation of egg injection method of

- pantothenic acid in turkey eggs and effect of supplemental pantothenic acid on hatchability. *Poult. Sci.* 72: 1740–1745.
- Robel, E.J., Christensen, V.L. 1991. Increasing hatchability of turkey eggs by injecting eggs with pyridoxine. *Br. Poult. Sci.* 32: 509–513.
- Robel, E.J. 2002. Assessment of dietary and egg injected d-biotin, pyridoxine, and folic acid on turkey hatchability: folic acid and poult weight. *World's Poultry Science Journal* 58: 305:315.
- Sarıca, Ş., Karataş, Ü., Gözalan, R. 2009. Kanatlılarda bağışıklık sistemi ve bağışıklık sistemini etkileyen besinsel faktörler. *Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi* 26(2): 81-86.
- Smirnov, A., Tako, E., Ferket, P.R., Uni, Z. 2006. Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates. *Poult. Sci.* 85: 669–673.
- Siwicki, A.K., Fuller, J.C., Nissen, Jr.S., Ostaszewski, P., Studnicka, M. 2000. In vitro effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on cell-mediated immunity in fish. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 76: 191-197.
- Tako, E., Ferket, P.R., Uni, Z. 2004. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poultry. Science.* 83: 2023–2028.
- Uni, Z., Ferket, P.R. 2003. Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding. US Patent 6,592,878. North Carolina State University, Raleigh, NC; and Yisum Research Development Company of the Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem (Israel).
- Uni, Z., Ferket, P.R. 2004. Methods for early nutrition and their potential, *World's Poultry Science Journal.* 60: 101–111.
- Uni, Z., Ferket, P.R., Tako, E., Kedar, O. 2005. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science* 84: 764-770.
- Vieira, S.L. 2007. Chicken embryo utilization of egg micronutrients. *Brazilian Journal of Poultry Science* 9(1): 1-8.