СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2020, том 55, № 6, с. 1061-1072

Обзоры, проблемы

УДК 636.5:591.3:57.044 doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1061rus

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ И ЕГО ПОСТНАТАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ
(обзор)

А.М. ДОЛГОРУКОВА ✉, В.Ю. ТИТОВ, В.И. ФИСИНИН, А.А. ЗОТОВ

У современных пород и кроссов кур мясного направления продуктивности быстрый рост сопровождается возникновением метаболических нарушений из-за несоответствия между скоростью эмбрионального и постэмбрионального развития. У птиц в пренатальный период происходят резкие физиологические и метаболические изменения, и любые нарушения в этот период влияют на эффективность вылупления и последующую продуктивность (E.T. Moran, 2007; V.L. Christensen с соавт., 2004). Поддержать эмбриональное развитие птицы и лучше подготовить цыплят к интенсивному росту можно, используя технологию кормления in ovo естественными питательными веществами — аминокислотами, углеводами, витаминами, а также стимуляторами роста и гормонами (P.R. Ferket, 2016). Согласно современным представлениям нутригеномики, питательные и биологически активные вещества способны влиять на экспрессию генов (В.И. Фисинин с соавт., 2006; L. Bordoni с соавт., 2019). Эксперименты с использованием технологии кормления in ovo показали, что инъекции питательных веществ влияют на физиологическое состояние эмбрионов бройлеров и цыплят после вылупления. Так, инъекции углеводов in ovo повышают количество доступной энергии для зародыша и уменьшают катаболизм белков и липидов во время выводного периода. В результате увеличивается масса цыплят на выводе, повышается скорость роста, что обусловлено лучшим развитием органов желудочно-кишечного тракта (R. Kornasio с соавт., 2011; R. Jha с соавт., 2019). Во время развития эмбриону необходимы все аминокислоты; отсутствие любой из них нарушает у него синтез протеинов и гомеостаз, что негативно сказывается на росте и развитии вылупившихся цыплят. Многочисленные исследования показали положительное влияние инъекций in ovo как индивидуальных аминокислот, так и их сочетаний на показатели роста и развития цыплят (Y. Ohta с соавт., 2001; T.M. Shafey с соавт., 2014; L.L. Yu с соавт., 2018). Около 94 % общей метаболической энергии эмбриона в период развития генерируется в результате окисления жирных кислот. Окислительные процессы сопровождаются образованием большого количества свободных радикалов, которые вызывают повреждение клеток (П. Сурай с соавт., 2013; A. Yigit с соавт., 2014). Витамины С и Е с антиоксидантными свойствами, применяемые в эмбриональный период, положительно влияли на развитие иммунной системы птенцов во время выращивания (S.A. Selim с соавт., 2012; S. Nowaczewski с соавт., 2012), L-карнитин усиливал утилизации глюкозы в анаэробных условиях в выводной период и увеличивал скорость роста цыплят (T.M. Shafey с соавт., 2010; А.М. Долгорукова, 2017). Таким образом, кормление в яйце (in ovo) может быть инструментом для значительного повышения выводимости и жизнеспособности цыплят, что, в свою очередь, даст положительный экономический эффект (E.D. Peebles, 2018). Следует, однако, отметить, то эта технология пока не нашла широкого применения в промышленном птицеводстве, и для понимания стимулирующего влияния различных нутриентов на развитие эмбриона птиц требуется продолжение исследований.

Ключевые слова: эмбриональное развитие, бройлеры, пренатальный период, кормление в яйце, аминокислоты, антиоксиданты, витамин Е, витамин С, L-карнитин, скорость роста.

Птицеводство — одна из ведущих отраслей сельского хозяйства по производству относительно дешевых и биологически полноценных продуктов питания. Особенности размножения одомашненной птицы, в частности тот факт, что у птиц эффективность репродукции на порядок выше, чем у млекопитающих, обусловили зарождение промышленного птицеводства (1).

За последние 50 лет достигнут значительный прогресс в улучшении функциональных характеристик птицы благодаря генетической селекции. Так, с 1957 по 2005 год скорость роста бройлеров увеличилась примерно на 400 % (за 5-6 нед жизни). При этом более высокая масса тела достигается за меньшее время при снижении потребления корма на 1 кг прироста массы тела (2, 3). Однако такой быстрый рост и развитие стали причиной ряда неблагоприятных осложнений, включая асциты, скелетные аномалии, иммуносупрессию и повышенную восприимчивость к инфекционным забо-

леваниям (4). По мнению M. Buzała с соавт. (5), такие метаболические осложнения могут быть обусловлены несоответствиями между процессами роста и развития во время эмбриогенеза и в постэмбриональный период (5). У современных бройлерных пород и кроссов длительность эмбрионального и неонатального развития приближается к 50 % от периода продуктивности (35-42 сут жизни).

Генетическая селекция предопределяет генотип птицы, однако то, каким образом унаследованные гены экспрессируются, зависит от внешних условий — питания и технологии выращивания. Согласно современным представлениям нутригеномики, питательные и биологически активные вещества способны влиять на экспрессию генов (6, 7). Эти факторы оказывают наибольшее воздействие в периоды интенсивного деления клеток во время эмбриогенеза, приводя к перманентным эффектам на протяжении всего постнатального периода (8, 9). Характер питательных веществ, поступающих к цыпленку в пренатальный период, формируют так называемый пищевой (или эпигенетический) импринтинг, от которого зависит дальнейший рост и развитие организма. При эпигенетическом импринтинге происходит метилирование ДНК в областях промоторов специфических генов, которые могут длительно модулировать адаптивный ответ организма на различные стимулы в критические периоды развития (10). В птицеводстве эпигенетическое программирование может осуществляться в течение двух критических периодов — в молодом промышленном стаде при гаметогенезе и во время эмбриогенеза, когда питательные вещества яйца потребляются эмбрионом через амниотическую жидкость и желток (11).

Поддержать эмбриональное развитие птицы и лучше подготовить цыплят к интенсивному росту можно, используя кормление in ovo естественными питательными веществами — аминокислотами, углеводами, витаминами, а также стимуляторами роста и гормонами. Цель настоящего обзора — анализ имеющихся в литературе данных об эффектах, которые оказывают углеводы, аминокислоты, антиоксиданты и витамины при применении in ovo, на эмбриональное и постэмбриональное развитие сельскохозяйственных птиц, о возможных механизмах этих эффектов, а также перспективах создания промышленных технологий пренатального кормления.

Технология пренатального кормления in ovo. Последний период инкубации характеризуется пероральным потреблением амниотической жидкости эмбрионом, интенсивным рассасыванием желтка, накоплением запасов гликогена в мышцах и печени для их использования во время наклева и вылупления, началом легочного дыхания, втягиванием остаточного желтка в брюшную полость, в завершение после наклева цыпленок выходит из скорлупы (12, 13). В этот период происходят резкие физиологические и метаболические изменения, и любые возникающие нарушения (например, задержка использования питательных веществ, температура инкубации) влияют на эффективность вылупления и последующую продуктивность (14-17).

Эксперименты с использованием технологии кормления in ovo показали, что инъекции питательных веществ влияют на физиологическое состояние эмбрионов бройлеров и цыплят после вылупления. Введенные таким образом питательные и биологически активные вещества в итоге улучшают пищевой статус цыплят, что приводит к большему потенциалу роста (18-20). Место инъекции в основном зависит от возраста эмбриона. Так, M.R. Ebrahimi с соавт. (18) предлагают вводить субстраты в яичный белок на глубину 12 мм до инкубации, а также на ее начальной стадии. После 17 сут инкубации инъекции осуществляют другие части яйца — в

воздушную камеру и амнион. Для введения экзогенных источников питательных и биологически активных веществ in ovo применяют либо инсулиновые шприцы (в условиях лабораторий) (21), либо установки, которые обеспечивают обработку большой партии яиц. Иглы, которые используются в таких устройствах, сконструированы таким образом, чтобы достигать амниона (22).

Особенности обмена углеводов и применение их экзогенных источников во время эмбриогенеза. Один из основных физиологических процессов в выводной период — поддержание гомеостаза глюкозы. Печень играет центральную роль в метаболизме углеводов и доставке глюкозы в ткани во время эмбриогенеза, осуществляя синтез глюкозы из неуглеводных предшественников (глюконеогенез), синтез гликогена (гликогенез) и распад гликогена (гликогенолиз) (23, 24). Запасы гликогена расходуются по мере того, как эмбрионы проходят процесс вылупления (25). Высокая скорость роста эмбриона связана с высоким потреблением энергии. Запасы гликогена в печени и мышцах не способны удовлетворить метаболические потребности эмбриона, особенно в последние сутки эмбриогенеза. Низкое содержание гликогена в печени коррелирует с более продолжительным вылуплением и низкой массой тела на выводе (14). Для гомеостатической регуляции количества глюкозы в крови эмбрион вынужден генерировать энергию с помощью различных метаболических процессов, например глюконеогенеза с использованием в качестве субстрата глицерола, высвобождающегося после липолиза, или аминокислоты после протеолиза (13). Протеолиз, при котором происходит деградация протеинов, отрицательно влияет на развитие эмбрионов (26, 27). Так как в яйце отсутствуют углеводы, запасы гликогена начнут пополняться, только когда вылупившийся цыпленок получит полный доступ к корму (13).

Введение различных типов углеводов in ovo, вероятно, повышает количество доступной энергии для зародыша и снижает катаболизм белков и липидов во время внутреннего вылупления. W. Zhai с соавт. (22) показали, что инъекции углеводов (глюкоза, сахароза, мальтоза и декстрины, 0,25 г действующего вещества на 1 мл разбавителя) статистически значимо ($p \leq 0{,}001$) повышают массу тела цыплят при вылуплении, которая увеличивается прямо пропорционально объему введенного раствора. Авторы рекомендуют инъецировать не более 0,4 мл сахарозы и 0,7 мл глюкозы, мальтозы и декстрина, при этом сохраняется 90 % выводимость. Фруктоза, в отличие от других углеводов, снижала выводимость и массу тела цыплят. Авторы не объяснили причину этого (22).

В конце инкубационного периода происходит быстрый рост и созревание висцеральных органов (28, 29). За последние 6 сут инкубации площадь поверхности всасывания в тонкой кишке увеличивается в 5 раз, возрастает число энтероцитов, появляются бокаловидные клетки, которые производят кислый муцин, развивается способность к перевариванию и всасыванию (30). Чем раньше кишечник достигает функциональной зрелости, тем быстрее птенцы смогут использовать питательные вещества корма, эффективно всасывать минералы и витамины, поддерживая тем самым развитие важнейших органов и систем (скелет, иммунная система, грудная мышца). Наблюдаемое увеличение массы тела цыплят, получавших углеводы во время эмбрионального развития, может быть связано с улучшением развития желудочно-кишечного тракта, что было подтверждено в исследовании R. Kornasio с соавт. (19). У цыплят, получивших в эмбриональный период смесь декстрина и гидроксиметилбутирата, повышалось содержание гликогена в печени и мышцах и активировалась про-

лиферация спутниковых клеток мышечной ткани. Эффект от состава, введенного in ovo, был длительным и влиял на массу птицы в конце периода выращивания (19). M. Salmanzadeh с соавт. (31) показали, что цыплята, получившие смесь глюкозы с магнием в эмбриональный период, имели бóльшую живую массу на выводе и на 42-е сут жизни по сравнению с контрольной группой, кроме того, повышался убойный выход и выход грудных мышц (31). Аналогичные результаты были получены в наших экспериментах. У 1-суточных цыплят мясных мини кур линии В77 относительная масса железистого и мускульного желудков в группе, получавшей декстрин в пренатальный период, была достоверно выше по сравнению с показателем в контрольной интактной группе. Живая масса 21-суточных цыплят из опытных групп, инъецированных in ovo глюкозой и декстрином (0,5 мл 10 % раствора), превышала таковую в контрольной группе соответственно на 3,9-6,7 % (20, 32). Подобные результаты были получены и на птице мясного направления продуктивности — цыплятах породы корниш кросса Смена 8 (33). Аналогичный эффект отмечали на эмбрионах уток: инъекция глутамина и углеводов (сахароза и мальтоза) in ovo привела к увеличению живой массы в конце выращивания, улучшила развитие кишечника, грудных мышц (34).

S.K. Bhanja с соавт. (35) показали, что in ovo инъекции глюкозы (50 мг на эмбрион) на 18-е сут инкубации влияли на развитие органов пищеварения и биохимический профиль крови цыплят. У 1-суточных цыплят из экспериментальной группы содержание глюкозы и белка в плазме крови, масса печени, железистого и мускульного желудков, тонкого кишечника повышались. На 10-е сут жизни у цыплят, получавших в эмбриональный период глюкозу, концентрация глюкозы и мочевой кислоты в плазме значимо снижалась, а масса селезенки и тонкого кишечника — повышалась (35).

Применение экзогенных аминокислот в эмбриогенезе. У птиц ткани грудной мышцы служат основным источником аминокислот для глюконеогенеза при недостатке энергии, что может приводить к ее атрофии (25, 36, 37). В случае позднего доступа к корму развитие и рост скелетных мышц задерживается и отстает вплоть до убойного возраста (17).

Y. Ohta с соавт. (38) провели эксперименты для оценки влияния инъекций in ovo смеси аминокислот на их использование эмбрионами. Было показано, что в группе, получавшей аминокислоты in ovo на 7-е сут инкубации, на 19-е сут содержание аминокислот в эмбрионе, желтке, белке, аллантоисной жидкости и жидкости амниона было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в контроле (при введении дистиллированной воды), по сравнению с контрольной группой также увеличивалась абсолютная и относительная масса 1-суточных цыплят (38).

Эти результаты подтвердились при изучении последствий введения смеси аминокислот (0,75 мл/эмбрион) на утках: при вылуплении масса птенцов была на 6,2 выше, чем в контроле, кроме того, отмечали увеличение массы лимфоидных органов (39, 40).

В ряде экспериментов изучено действие индивидуальных аминокислот. Так, I. Coskun с соавт. (41) продемонстрировали положительное влияние введения метионина (50 мкл/яйцо) в амнион эмбрионов бройлеров: относительная масса цыплят повысилась на 2,7 % по сравнению с контролем. S. Tahmasebi с соавт. (42) продемонстрировали положительное влияние треонина (25 мг/яйцо), введенного в амнион на 14-е сут инкубации, что привело к увеличению скорости роста цыплят по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$), а также улучшению развития органов же-

лудочно-кишечного тракта.

Y. Ohta с соавт. (43) предположили, что концентрация аминокислот в яйцах, например глицина и пролина, недостаточна для поддержания развития зародыша в заключительную фазу инкубации. Это же подтверждают исследования (44), которые показали статистически значимые различия по массе тела у 1-суточных и 3-недельных цыплят, если глицин и пролин вводили в эмбриональный период, по сравнению с контрольной группой.

B.C. Tong и A. Barbul (45) утверждают, что аргинин — незаменимая аминокислота для эмбрионов, что главным образом обусловлено его ролью в синтезе белка. Аргинин вовлечен в ряд метаболических путей, принимая участие в образовании различных биологически активных соединений, что также способствует максимизации потенциала развития эмбриона, стимулируя секрецию гормонов роста. Известно, что аргинин служит субстратом для синтеза оксида азота, интенсивность окисления которого во время эмбрионального развития связана со скоростью роста цыплят после вывода (46, 47). У цыплят, получавших в эмбриональный период аргинин, после вывода повышалась скорость роста и ферментативная активность пищеварительных желез, улучшалось морфологическое развитие органов желудочно-кишечного тракта (42, 48). Показано, что выводимость яиц была выше в группе, где эмбрионам вводили аргинин и лизин на 18-е сут инкубации, на 42-е сут жизни масса тела у полученных цыплят была выше по сравнению с контрольной группой (49). В других опытах инъекции in vivo 0,6 % раствора аргинина способствовали увеличению концентрации альбумина в плазме крови, отложению протеина в грудных мышцах и, как следствие, усилению роста грудных мышц у цыплят (50).

На других видах домашней птицы отмечали аналогичные эффекты. После инъекции 3 % раствора аргинина в воздушную камеру эмбрионов перепелов повышалась синхронность в вылуплении птенцов, повышалась живая масса на 7-е и 42-е сут жизни, улучшалась конверсия корма по сравнению с контрольной группой (51). В испытаниях на индейках кормление in ovo раствором, содержащим 0,7 % аргинина, способствовало в среднем двукратному увеличению активности пищеварительных ферментов поджелудочной железы (сахаразы, мальтазы, лейцинаминопептидазы) в тонком кишечнике эмбрионов на 25-е сут (52). На 14-е сут жизни цыплят активность этих ферментов была в 3 раза выше, чем в контроле (52).

Как уже отмечалось, эффект от кормления in ovo может быть обусловлен эпигенетическими механизмами. Показано, что инъекции in ovo L-аргинина в различные сроки инкубации куриных эмбрионов усиливают экспрессию генов факторов детерминации миобластов (MyoD) и миогенина в грудных мышцах эмбрионов (53). Авторы исследования объясняют наблюдаемый эффект тем, что L-аргинин — это прекурсор NO (53). Влияние оксида азота на стимуляцию процессов эмбрионального миогенеза посредством усиления экспрессии миогенных регуляторных факторов было показано при инъекциях in ovo куриным эмбрионам ингибиторов NO-синтазы — фермента, участвующего в образовании оксида азота из L-аргинина, либо доноров NO (54).

Эпигенетический эффект экзогенных аминокислот отмечали при введении in ovo серосодержащих аминокислот метионина и цистеина, которые усиливали экспрессию генов инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) и toll-подобного рецептора 4 (TLR-4) (55).

Особенности энергетического обмена эмбрионов птиц и применение антиоксидантов и витаминов в эмбриогенезе.

Метаболизм птиц в эмбриональный период имеет некоторые особенности и отличается от метаболизма в постнатальном онтогенезе. Это обусловлено уникальным строением птичьего яйца, в котором практически весь запас источников энергии составляют триглицериды желтка и частично протеины, тогда как свободных углеводов крайне мало: 0,5 % в желтке и 0,2 % в белке, из которых 98 % приходится на глюкозу (56). Успешное развитие зародыша у птиц зависит от доставки достаточного количества липидов (в определенном соотношении) из желтка к эмбриону и метаболической способности тканей зародыша к их утилизации для роста и дифференциации. Подсчитано, что 94 % общей метаболической энергии эмбриона в процессе развития генерируется в результате окисления жирных кислот (28, 57).

Наличие большого количества ненасыщенных жирных кислот в присутствии кислорода чревато возникновением окислительных процессов с образованием кислородных радикалов. Они приводят к повреждению эмбриональных и зародышевых структур и накоплению токсических соединений. Антиоксиданты противодействуют негативному воздействия свободных радикалов и тем самым защищают зародыш от повреждений (58, 59).

Установлено положительное влияние инъекций in ovo витаминов Е (10 мг) и С (3 мг) на массу тела утят после вывода и на последующую скорость их роста. Экспериментальные группы характеризовались улучшенной конверсией корма (60). Изучение влияния витамина Е на продуктивность и иммунологические показатели крови цыплят после вывода выявило влияние этого соединения на развитие иммунной системы у птенцов в период выращивания. Инъекция витамина Е в дозе 30 мг привела к повышению устойчивости к птичьему гриппу и инфекционному бронхиту. В экспериментальных группах отмечалось повышение титров иммуноглобулинов IgG, IgM и IgA (61). S. Nowaczewski с соавт. (62), рассматривая влияние витамина С на выводимость куриных и утиных яиц, нашли, что его положительный эффект проявлялся только в утиных яйцах. В случае куриных яиц инъекции витамина С не оказали существенного воздействия на улучшение выводимости. В утиных яйцах лучшие результаты вывода были получены в экспериментальных группах, независимо от дозы и времени введения in ovo аскорбиновой кислоты. В среднем разница по выводимости утиных яиц между экспериментальными и контрольными группами составила 32,5 % (62). Противоположные результаты на куриных яйцах получили Y. Zhu с соавт. (63): при инъекции 11-суточным эмбрионам аскорбиновой кислоты (3 мг/яйцо) наблюдали и улучшение выводимости, и увеличение скорости роста цыплят до 42-суточного возраста. Более того, те же авторы обнаружили повышение экспрессии генов *IL-4* и *DNMT1* и снижение — *IL-1β*, *Tet 2*, *Tet 3* и *Gadd 45β* ($p < 0,05$) в тканях селезенки у 21-суточных цыплят, получавших аскорбиновую кислоту на 11-е сут инкубации (63). По-видимому, эффект антиоксидантов зависит от особенностей жирнокислотного состава яйца и содержания эндогенных антиокислителей.

В течение последних 2-3 сут инкубации из-за высокой энергоемкости процесса вылупления и относительно низкой доступности кислорода жирные кислоты не могут обеспечить эмбрион всей необходимой энергией (13). Вследствие этого эмбрион переходит к анаэробному катаболизму глюкозы, интенсивность которого зависит от количества глюкозы, запасенной в виде гликогена печени, почек и мышц и генерируемой при глюконеогенезе из аминокислот, глицерина и лактата (23, 49).

Одно из веществ, стимулирующих окисление жирных кислот для получения энергии, — L-карнитин, который относится к группе биологически

активных соединений и играет важную роль в энергетическом обмене в период эмбриогенеза, участвуя в переносе ацильных групп жирных кислот из желтка в ткани эмбриона. Эмбрионы птиц обладают ограниченной способностью синтезировать L-карнитин во время инкубации. Изучение эффекта экзогенных источников L-карнитина дало неоднозначные результаты. В одних опытах введение L-карнитина до инкубации в дозах от 2 до 12 мг/яйцо не оказывало существенного влияния на постэмбриональное развитие цыплят (18). Увеличение дозы L-карнитина повышало время вывода и снижало выводимость; авторы не приводят объяснения механизма, вызвавшего снижение выводимости (18). В других работах применение L-карнитина in ovo не снижало выводимость и не увеличивало период вылупления птенцов (64). При этом отмечалось увеличение абсолютной и относительной массы цыплят на выводе, содержания гликогена в печени и грудной мышце и инсулиноподобного фактора роста в плазме крови (64). Также показано, что инъекция L-карнитина на 14-е сут инкубации значительно увеличивала выводимость, повышала скорость роста цыплят и улучшала конверсию корма (65). Аналогичные результаты получены и в наших исследованиях. В результате инъекции in ovo L-карнитина в количестве 2-3 мг/яйцо выводимость повышалась, у 1-суточных цыплят статистически значимо увеличивалась масса, достоверно уменьшалась концентрация глюкозы и возрастала активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении утилизации глюкозы в анаэробных условиях в выводной период (66, 67).

Следует отметить, что дозировки L-карнитина, применяемые в исследованиях, сильно различаются. По-видимому, необходимо четкое представление о норме синтеза карнитина во время эмбриогенеза, контроле его исходного содержания и коррекции в случае отступления от нормы.

Таким образом, пренатальный период в развитии птицы — чрезвычайно важный и критический период. Технология кормления в яйце может помочь цыпленку успешно преодолеть этот этап и наиболее полно реализовать свой генетический потенциал роста. Увеличение скорости роста птицы происходит благодаря способности кишечника лучше переваривать и усваивать пищу. Этого можно добиться посредством введения in ovo соединений, которые стимулируют функциональную активность клеток желудочно-кишечного тракта. В первую неделю после вылупления в организме цыплят происходят метаболические и физиологические изменения. Более быстрая адаптация желудочно-кишечного тракта к экзогенной пище необходима для роста и повышения жизнеспособности. Немаловажно и то, что пренатальное кормление оказывает эпигенетический эффект, индуцируя экспрессию генов, продукты которых участвуют в основных метаболических путях и процессах в тканях и органах и тем самым влияет на продуктивность. Следовательно, кормление в яйце может быть инструментом для значительного повышения выводимости и жизнеспособности цыплят.

Несмотря на множество проведенных исследований, метод пренатального кормления пока не нашел промышленного применения. Данные по дозировкам экзогенных веществ существенно разняться, как и сроки их использования. Для подбора оптимальной дозы необходим контроль углеводного, аминокислотного и витаминного состава эмбриона. А это, в свою очередь, требует установки норм содержания таких соединений в эмбрионе и разработки технологии быстрого поточного определения и коррекции соответствующих показателей в инкубационном яйце. Для внедрения обсуж-

даемой технологии в практику необходимы исследования с использованием существующих автоматизированных систем (68, 69).

Кроме того, не ясна экономическая эффективность такой технологии. Исходя из того, что ее основные значимые показатели — это выводимость и скорость роста цыплят, мы кратко обобщили имеющиеся в специальной литературе данные по этой теме (табл.).

Влияние веществ, введенных in ovo, на выводимость и скорость роста цыплят

Действующее вещество	Срок инкубации, сут/доза на эмбрион	Влияние		Ссылка
		на выводимость	на рост	
Глюкоза, мальтоза, декстрин	18/25 мг	+	+	(22)
Декстрин, гидроксиметилбутират	18/0,7 мл, 0,4 % раствор	Нет данных	+	(19)
Глюкоза, декстрин	17/0,5 мл 10 % раствор	Нет влияния	+	(32)
Глюкоза	18/50 мг	Нет влияния	+	(35)
Смесь аминокислот	7/0,7 мл	–	+	(43)
Смесь аминокислот	7/53 мг	+	+	(38)
Метионин	16/50 мкл	–	+	(41)
Треонин	14/25 мг	Нет данных	+	(42)
Глицин + пролин	14/5,8 мг	–	+	(44)
Аргинин	17,5/0,6 мг	Нет данных	+	(50)
Аргинин	0/0,5 мл, 3 % раствор	+	+	(51)
Аргинин	21/1,5 мл, 0,7 % раствор	Нет влияния	+	(52)
Метионин + цистеин	17,5/6,3 мг	Нет влияния	+	(55)
Аскорбиновая кислота	11/3 мг	+	+	(63)
Аскорбиновая кислота	17/3 мг	–	Нет данных	(62)
ВитаминЕ	12/10 мг	+	+	(60)
Витамин Е	14/15-30 мг	+	+	(61)
Фолиевая кислота	11/100-150 мкг	+	+	(18)
Карнитин	0/8 мг	–	Нет влияния	(64)
Карнитин	18/25-100 мкг	Нет влияния	+	(65)
Карнитин	14/4-12 мг	+	+	(66)
Карнитин	17/3 мг	+	+	(22)

Примечание. «+» — улучшение, «–» — ухудшение, «нет влияния» — показатель остался без изменения.

Итак, несмотря на то что подавляющее большинство исследователей заявляют о положительном влиянии пренатального кормления на скорость роста птиц, множество вопросов остаются еще не решенными и спорными. Неоднозначно влияние на жизнеспособность эмбрионов после воздействия на них экзогенных веществ, не ясна их дозировка и сроки доставки эмбриону. Установление норм содержания таких экзогенных веществ в яйце и изучение физиологических механизмов ответа эмбрионов после воздействия ими остается важнейшей задачей, без решения которой невозможно успешное регулирование продуктивных качеств птицы на эмбриональной стадии.

ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН,
141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10,
e-mail: anna.dolg@mail.ru ✉, vtitov43@yandex.ru, olga@vnitip.ru, inkub@vnitip.ru

Поступила в редакцию 12 декабря 2019 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2020, V. 55, № 6, pp. 1061-1072

PRENATAL NUTRITION OF POULTRY AND ITS POSTNATAL EFFECTS (review)

A.M. Dolgorukova ✉, *V.Yu. Titov, V.I. Fisinin, A.A. Zotov*

Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail anna.dolg@mail.ru (✉ corresponding author), vtitov43@yandex.ru, olga@vnitip.ru, inkub@vnitip.ru
ORCID:
Dolgorukova A.M. orcid.org/0000-0002-9958-8777
Titov V.Yu. orcid.org/0000-0002-2639-7435
Fisinin V.I. orcid.org/0000-0003-0081-6336
Zotov A.A. orcid.org/0000-0001-9761-3804
The authors declare no conflict of interests

Received December 12, 2019 doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1061eng

Abstract

Fast growth rate in modern meat-type poultry is accompanied by several metabolic disorders resulting from the discrepancy between embryonic and postembryonic growth and development. Prenatal period of avian ontogenesis is characterized by abrupt physiologic and metabolic alterations and hence any disturbance at this stage can affect the hatch efficiency and subsequent postnatal growth and productivity (E.T. Moran, 2007; V.L. Christensen et al., 2004). The embryonic development in eggs can be supported by the in ovo nutrition using natural nutrients (amino acids, carbohydrates, vitamins) as well as growth stimulators and hormones; this approach can also prepare the poults for the intense postnatal growth (P.R. Ferket, 2016). From the nutrigenomic point of view, the nutrients and bioactive substances can affect gene expression (V.I. Fisinin et al., 2006; L. Bordoni et al., 2019). The experiments with the in ovo nutrition proved that the injections of nutrients can affect physiological status of broiler embryos and hatched broiler chicks. E.g. the injections of carbohydrates enlarge the pool of energy available for the embryo and decreases the catabolism of proteins and lipids during the final stage of incubation, resulting in the increases in the weight of the hatched chicks and in postnatal growth rate, supported by better development of the gastrointestinal tract (R. Kornasio et al., 2011; R. Jha et al., 2019). All amino acids are necessary for the developing embryo; the absence of any of the amino acids can disrupt protein synthesis and homeostasis in the embryo, resulting in poorer postnatal growth and development. A bulk of studies were published which demonstrated the positive effects of the in ovo injections of individual or mixed amino acids on postnatal growth rate (Y. Ohta et al., 2001; T.M. Shafey et al., 2014; L.L. Yu et al., 2018). Ca. 94 % of total metabolizable energy in the embryo is generated via the oxidation of fatty acids. These oxidative processes, in turn, generate substantial amounts of free radicals which can result in vast cellular damage (P. Surai and V.I. Fisinin, 2013; A. Yigit et al., 2014). The administration of vitamins with antioxidative activity (like C or E) during the embryonic period positively affected the postnatal development of the immune system in chicks (S.A. Selim et al., 2012; S. Nowaczewski et al., 2012). The administration of L-carnitine into the embryos was shown to enhance pre-hatch glucose utilization in the anaerobic conditions and postnatal growth in the chicks (T.M. Shafey et al., 2010; A.M. Dolgorukova, 2017). The in ovo nutrition can therefore be an instrument of significant improvement of the hatchability of the injected eggs and subsequent growth efficiency in hatched chicks, resulting in explicit economic effect (E.D. Peebles, 2018). It should, however, be noted that this technique has not still found application in the commercial poultry production and that for wider knowledge on the stimulating effects of different nutrients on the development of avian embryo further research is required.

Keywords: embryonic development, broilers, prenatal period, in ovo nutrition, amino acids, antioxidants, vitamin E, vitamin C, L-carnitine, growth rate.

REFERENCES

1. Fisinin V.I. *Mirovoe i rossiiskoe ptitsevodstvo: realii i vyzovy budushchego: monografiya* [World and Russian poultry farming: realities and challenges of the future: monograph]. Moscow, 2019 (in Russ.).
2. Druyan S. The effects of genetic line (broilers vs. layers) on embryo development. *Poultry Science*, 2010, 89: 1457-1467 (doi: 10.3382/ps.2009-00304).
3. Zuidhof M.J., Schneider B.L., Carney V.L., Korver D.R., Robinson F.E. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry Science*, 2014, 93(12): 2970-2982 (doi: 10.3382/ps.2014-04291).
4. Havenstein G.B., Ferket P.R., Qureshi M.A. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 2003, 82(10): 1500-1508 (doi: 10.1093/ps/82.10.1500).
5. Buzała M., Janicki B., Czarnecki R. Consequences of different growth rates in broiler breeder and layer hens on embryogenesis, metabolism and metabolic rate: A review. *Poultry Science*, 2015, 94(4): 728-733 (doi: 10.3382/ps/pev015).
6. Fisinin V.I., Surai P.F., Papazyan T.G. *Zhivotnovodstvo Rossii*, 2006, 11: 21-23 (in Russ.).
7. Bordoni L., Gabbianelli R. Primers on nutrigenetics and nutria(epi)genomics: Origins and development of precision nutrition. *Biochimie*, 2019, 160: 156-171 (doi: 10.1016/j.biochi.2019.03.006).
8. Nagaeva E.V., Shiryaeva T.Yu. *Problemy endokrinologii*, 2010, 6: 32-40 (in Russ.).
9. Koletzko B., Brands B., Poston L., Godfrey K., Demmelmair H. Early nutrition programming of long-term health. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2012, 71(3), 371-378 (doi: 10.1017/S0029665112000596).
10. Kaneko K., Choudhuri S. Chapter 52. Epigenetics in reproduction and development. In: *Reproductive and developmental toxicology (second edition)*. R.C. Gupta (ed.). Academic Press, UK, 2017: 1005-1021 (doi: 10.1016/B978-0-12-804239-7.00052-4).
11. Ferket P.R. The potential of perinatal nutrition. *The Proceedings of XXV World's Poultry Congress.*

N. Yang, L. Lian, J. Zheng, X. Liu, C. Wu (eds.). Beijing, China, 2016: 161-166.
12. Boleli I.C., Morita V.S., Matos J.B., Thimotheo M., Almeida V.R. Poultry egg incubation: integrating and optimizing production efficiency. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2016, 18(spe): 1-16 (doi: 10.1590/1806-9061-2016-0292).
13. Moran E.T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 2007, 86(5):1043-1049 (doi: 10.1093/ps/86.5.1043).
14. Christensen V., Wineland M.J., Yildirum I., Ort D.T., Mann K.M. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affects intestinal maturation of turkey embryos. *International Journal of Poultry Science*, 2004, 3(6): 378-385 (doi: 10.3923/ijps.2004.378.385).
15. Almeida V.R., Morita V.S., Sgavioli S., Vicentini T.I., Castiblanco D.M.C., Boleli I.C. Incubation temperature manipulation during fetal development reduces adiposity of broiler hatchlings. *Poultry Science*, 2016, 95(2): 316-324 (doi: 10.3382/ps/pev327).
16. Piestun Y., Harel M., Barak M., Yahav S, Halevy O. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. *Journal of Applied Physiology*, 2010, 106(1): 233-240 (doi: 10.1152/japplphysiol.91090.2008).
17. Willemsen H., Debonne M., Swennen Q., Everaert N., Careghi C., Han H., Bruggeman V., Tona K., Decuypere E. Delay in feed access and spread of hatch: Importance of early nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 2010, 66(2): 177-188 (doi: 10.1017/S0043933910000243).
18. Ebrahimi M.R., Jafari Ahangari Y., Zamiri M.J., Akhlaghi A., Atashi H. Does preincubational in ovo injection of buffers or antioxidants improve the quality and hatchability in long-term stored eggs? *Poultry Science*, 2012, 91(11): 2970-2976 (doi: 10.3382/ps.2012-02246).
19. Kornasio R., Halevy O., Kedar O., Uni Z. Effect of in ovo feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. *Poultry Science*, 2011, 90(7): 1467-1477 (doi: 10.3382/ps.2010-01080).
20. Jha R., Singh A.K., Yadav S., Berrocoso J.F.D., Mishra B. Early nutrition programming (in ovo and post-hatch feeding) as a strategy to modulate gut health of poultry. *Frontiers in Veterinary Science*, 2019, 6: 82 (doi: 10.3389/fvets.2019.00082).
21. Dolgorukova A.M., Gulyushin S.Yu., Sidorova L.I. *Sposob povysheniya zhiznesposobnosti embrionov sel'skokhozyaistvennoi ptitsy. Patent na izobretenie. RUS 2616424 MPK A01K 41/00. Vseros. nauch.-issl. in-t ptitsevodstva (RU) № 2015149120. Zayavl. 16.11.2015. Opubl. 14.04.2017. Byul. № 11* [Method for increasing the viability of poultry embryos. Patent for an invention. RUS 2616424 MPK A01K 41/00. All-Russian Research Poultry Institute (RU) № 2015149120. Appl. 16.11.2015. Publ. 14.04.2017. Bull. № 11] (in Russ.).
22. Zhai W., Rowe D.E., Peebles E.D. Effects of commercial in ovo injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. *Poultry Science*, 2011, 90(6): 1295-1301 (doi: 10.3382/ps.2010-01130).
23. Christensen V.L., Wineland M.J., Fasenko G.M., Donaldson W.E. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. *Poultry Science*, 2001, 80(12): 1729-1735 (doi: 10.1093/ps/80.12.1729).
24. Uni Z., Ferket P.R., Tako E., Kedar O. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science*, 2005, 84(5): 764-770 (doi: 10.1093/ps/84.5.764).
25. Lu J.W., Mc Murtry J.P., Coon C.N. Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. *Poultry Science*, 2007, 86(4): 673-683 (doi: 10.1093/ps/86.4.673).
26. Vieira S., Moran E. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. *World's Poultry Science Journal*, 1999, 55(2): 125-142 (doi: 10.1079/WPS19990009).
27. Willems E., Hu T.-T., Soler Vasco L., Buyse J., Decuypere E., Arckens L., Everaert N. Embryonic protein undernutrition by albumen removal programs the hepatic amino acid and glucose metabolism during the perinatal period in an avian model. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e94902 (doi: 10.1371/journal.pone.0094902).
28. Uni Z., Yadgary L., Roni Y. Nutritional limitations during poultry embryonic development. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2012, 21(1): 175-184 (doi: 10.3382/japr.2011-00478).
29. Uni Z., Tako E., Gal-Garber O., Sklan D. Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Science*, 2003, 82(11): 1747-1754 (doi: 10.1093/ps/82.11.1747).
30. Gilbert E.R., Li H., Emmerson D.A., Webb K.E., Wong E.A. Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers. *Poultry Science*, 2007, 86(8): 1739-1753 (doi: 10.1093/ps/86.8.1739).
31. Salmanzadeh M., Ebrahimnezhad Y., Aghdam Shahryar H., Beheshti R. The effects of in ovo injection of glucose and magnesium in broiler breeder eggs on hatching traits, performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. *Arch. Geflugelkd.*, 2012, 76(4): 277-284.
32. Dolgorukova A.M., Zotov A.A. *Ptitsevodstvo*, 2019, 3: 48-52 (doi: 10.33845/0033-3239-2019-68-

3-48-52) (in Russ.).
33. Dolgorukova A.M., Gulyushin S.Yu., Mikhaleva M.S. *Veterinariya, zootekhniya i biotekhnologiya*, 2019, 2: 34-38 (doi: 10.26155/vet.zoo.bio.201902006) (in Russ.).
34. Chen W., Wang R., Wan H.F., Xiong X.L., Peng P., Peng J. Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. *British Poultry Science*, 2009, 50(4): 436-442 (doi: 10.1080/00071660903114341).
35. Bhanja S.K., Mandal A.B., Agarwal S.K., Majumdar S. Effect of in ovo glucose injection on the post hatch-growth, digestive organ development and blood biochemical profiles in broiler chickens. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 2008, 78(8): 869-872.
36. Willems E., Wang Y., Willemsen H., Lesuisse J., Franssens L., Guo X., Koppenol A., Buyse J., Decuypere E., Evaraert N. Partial albumen removal early during embryonic development of layer-type chickens has negative consequences on laying performance in adult life. *Poultry Science*, 92(7): 1905-1915 (doi: 10.3382/ps.2012-03003).
37. De Oliveira J.I., Uni Z., Ferket P.R. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. *World's Poultry Science Journal*, 2008, 64(4): 488-499 (doi: 10.1017/S0043933908000160).
38. Ohta Y., Kidd M.T., Ishibashi T. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. *Poultry Science*, 2001, 80(10): 1430-1436 (doi: 10.1093/ps/80.10.1430).
39. Gaafar K. Effect of in-ovo injection of amino acids mixture in fertilized breeder's eggs of Muscovy ducks on the performance of newly-hatched ducklings. *Minufiya Vet. J.*, 2009, 6: 1-12.
40. Gaafar K.M., Selim S.A., El-Ballal S.S. Effect of in-ovo administration with two levels of amino acids mixture on the performance of Muscovy ducks. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2013, 25(1): 58-65 (doi: 10.9755/ejfa.v25i1.9666).
41. Coskun I., Erener G., Sahin A., Karadavut U., Altop A., Okur A.A. Impacts of in ovo feeding of DL-methionine on hatchability and chick weight. *Turkish Journal of Agriculture — Food and Science and Technology*, 2014, 2(1): 47-50 (doi: 10.24925/turjaf.v2i1.47-50.64).
42. Tahmasebi S., Toghyani M. Effect of arginine and threonine administered in ovo on digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2016, 100(5): 947-956 (doi: 10.1111/jpn.12400).
43. 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*, 1999, 78(11): 1493-1498 (doi: 10.1093/ps/78.11.1493).
44. Bhanja S.K., Mandal A.B. Effect of in ovo injection of critical amino acids on pre- and post-hatch growth, immunocompetence and development of digestive organs in broiler chickens, *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2005, 18(4): 524-531 (doi: 10.5713/ajas.2005.524).
45. Tong B.C., Barbul A. Cellular and physiological effects of arginine. *Mini-Reviews in Medical Chemistry*, 2004, 4(8): 823-832 (doi: 10.2174/1389557043403305).
46. Titov V.Yu., Dolgorukova A.M., Fisinin V.I., Borhunova E.N., Kondratov G.V., Slesarenko N.A., Kochish I.I. The role of nitric oxide (NO) in the body growth rate of birds. *World's Poultry Science Journal*, 2018, 74(4): 675-686 (doi: 10.1017/S0043933918000661).
47. Titov V.Y., Ivanova A.V., Osipov A.N., Dolgorukova A.M., Vertiprakhov V.G., Slesarenko N.N., Kochish I.I. Synthesis and metabolism of nitric oxide (NO) in chicken embryos and in the blood of adult chicken. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, 168(3): 321-325 (doi: 10.1007/s10517-020-04700-4).
48. Gao T., Zhao M.M., Li Y.J. Effects of in ovo feeding of L-arginine on the development of digestive organs, intestinal function and post-hatch performance of broiler embryos and hatchlings. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2018, 102(1): 166-175 (doi: 10.1111/jpn.12724).
49. Shafey T.M., Mahmoud A.H., Alsobayel A.A, Abouheif M.A. Effects of in ovo administration of amino acids on hatchability and performance of meat chickens. *South African Journal of Animal Science*, 2014, 44(2): 123-130.
50. Yu L.L., Gao T., Zhao M.M., Lv P.A., Zhang L., Li J.L., Jiang Y., Gao F., Zhou G.H. Effects of in ovo feeding of L-arginine on breast muscle growth and protein deposition in post-hatch broilers. *Animal*, 2018, 12(11): 2256-2263 (doi: 10.1017/S1751731118000241).
51. Al-Daraji H.J., Al-Mashadani A.A., Al-Hayani W.K., Al-Hassani A.S., Mirza H.A. Effect of in ovo injection with L-arginine on productive and physiological traits of Japanese quail. *South African Journal of Animal Science*, 2012, 42(2): 139-145.
52. Foye O.T., Ferket P.R., Uni Z. The effects of in ovo feeding arginine, hydroxy-methyl-butyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. *Poultry Science*, 2007, 86(11): 2343-2349 (doi: 10.3382/ps.2007-00110).
53. Subramaniyan S.A., Kang D.R., Park J.R., Siddiqui S.H., Ravichandrian P., Yoo D.J., Na C.S., Shim K.S. Effect of in ovo injection of L-arginine in different chicken embryonic development stages on post-hatchability, immune response, and Myo-D and myogenin proteins. *Animals*, 2019, 9(6): 357 (doi: 10.3390/ani9060357).
54. Cazzato D., Assi E., Moscheni C., Brunelli S., De Palma C., Cervia D., Perrotta C., Clementi E.

Nitric oxide drives embryonic myogenesis in chicken through the upregulation of myogenic differentiation factors. *Experimental Cell Research*, 2014, 3(20): 269-280 (doi: 10.1016/j.yexcr.2013.11.006).
55. Elwan H.A.M., Elnesr S.S., Xu Q., Xie C., Dong X., Zou X. Effects of in ovo methionine-cysteine injection on embryonic development, antioxidant status, IGF-I and TLR4 gene expression, and jejunum histomorphometry in newly hatched broiler chicks exposed to heat stress during incubation. *Animals*, 2019, 9(1): 25 (doi: 10.3390/ani9010025).
56. Hartmann C., Wilhelmson M. The hen's egg yolk: a source of biologically active substances. *World's Poultry Science Journal*, 2001, 57(1): 13-28 (doi: 10.1079/WPS20010003).
57. Şahan U., Ipek A., Sozcu A. Yolk sac fatty acid composition, yolk absorption, embryo development, and chick quality during incubation in eggs from young and old broiler breeders. *Poultry Science*, 2014, 93(8): 2069-2077 (doi: 10.3382/ps.2013-0385054).
58. Curai P., Fisinin V.I. Natural antioxidants in hens' embryogenesis and antistress defence in postnatal development (review). *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*, 2013, 2: 3-18 (doi: 10.15389/agrobiology.2013.2.3eng).
59. Yigit A.A., Panda A.K., Cherian G. The avian embryo and its antioxidant defense system. *World's Poultry Science Journal*, 2014, 70(3): 563-574 (doi: 10.1017/S0043933914000610).
60. Selim S., Gaafar K., El-Ballal S. Influence of in-ovo administration with vitamin E and ascorbic acid on the performance of Muscovy ducks. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2012, 24: 264-271.
61. Salary J., Sahebi-Ala F., Kalantar M., Matin H.R.H. In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2014, 4(suppl. 2): S616-S619(doi: 10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0088).
62. Nowaczewski S., Kontecka H., Krystianiak S. Effect of in ovo injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. *Folia Biologica (Krakow)*, 2012, 60(1-2): 93-97 (doi: 10.3409/fb60_1-2.93-97).
63. Zhu Y., Li S., Duan Y., Ren Z., Yang X., Yang X. Effects of in ovo feeding of vitamin C on post-hatch performance, immune status and DNA methylation-related gene expression in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 2020, 124(9): 903-911 (doi: 10.1017/S000711452000210X).
64. Shafey T.M., Al-Batshan H.A., Al-Owaimer A.N., Al-Samawei K.A. Effects of in ovo administration of L-carnitine on hatchability performance, glycogen status and insulin-like growth factor-1 of broiler chickens. *British Poultry Science*, 2010, 51(1): 122-131 (doi: 10.1080/00071660903271190).
65. Rabie M.H., Ismail F.S.A., Ahmed A.A.S. Effect of in ovo inection of L-carnitine at different incubational ages on egg hatchability in broiler breeders and post-hatch performance. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2015, 10(12): 875-884 (doi: 10.3923/ajava.2015.875.884).
66. Dolgorukova A.M. *Ptitsevodstvo*, 2017, 1: 22-25 (in Russ.).
67. Grozina A., Dolgorukova A. The in ovo application of L-carnitine during embryogenesis in meat-type chicken. *The Proceedings of XXV World's Poultry Congress.* N. Yang, L. Lian, J. Zheng, X. Liu, C. Wu (eds.). Beijing, China, 2016: 583.
68. Saeed M., Babazadeh D., Naveed M., Alagawany M., Abd El-Hack M.E., Arain M.A., Tiwari R., Sachan S., Karthik K., Dama K., Elnesr S.S., Chao S. In ovo delivery of various biological supplements, vaccines and drugs in poultry: current knowledge. *J. Sci. Food Agric.*, 2019, 99(8): 3727-3739 (doi: 10.1002/jsfa.9593).
69. Peebles E.D. In ovo applications in poultry: a review. *Poultry Science*, 2018, 97(7): 2322-2338 (doi: 10.3382/ps/pey081).