

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Döllü Etlik Tavuğu (Parent Stock) Yumurtalarına Lizin ve  
Metyonin Enjeksiyonunun Etlik Piliçlerin Sindirim Sistemi  
Gelişimi ve Büyüme Performansına Etkileri**

**Ayşenur AKKAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR-2015**

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Döllü Etlik Tavuğu (Parent Stock) Yumurtalarına Lizin ve  
Metiyonin Enjeksiyonunun Etlik Piliçlerin Sindirim Sistemi  
Gelişimi ve Büyüme Performansına Etkileri**

**Ayşenur AKKAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. İsa COŞKUN**

**KIRŞEHİR-2015**

## **Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

Bu çalışma jürimiz tarafından Zootekni Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Ahmet ŞAHİN

Üye Yrd. Doç. Dr. Aydın ALTOP

Üye Yrd. Doç. Dr. İsa COŞKUN (Danışman)

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../2015

Prof. Dr. Levent KULA

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Döllü Etlik Tavuğu (Parent Stock) Yumurtalarına Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Etlik Piliçlerin Sindirim Sistemi Gelişimi ve Büyüme Performansına Etkileri

Bu çalışmada döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin amino asitlerinin enjeksiyonunun kuluçka randımanı, civciv ağırlığı, büyüme performansı, sindirim sistemi gelişimi, sekal toplam canlı bakteri, *E.coli*, *Coliform*, *Enterobacteriaceae* ve ileal histomorfoloji üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada 60 haftalık yaştaki damızlıklardan elde edilen 300 adet döllü yumurta kullanılmıştır. Çalışmadan önce optimal aminoasit dozunun belirlenmesi için 3 ön deneme yapılmıştır. Yapılan ön denemelerin sonucunda optimum doz her bir yumurta için 2 mg/0.2 ml olarak belirlenmiştir. Kuluçkadan önce, yumurtalar bireysel olarak tartılarak numaralandırılmıştır. Kuluçkanın 16. gününde yumurtalar 5 muamele grubuna ayrılmıştır. NK=negatif kontrol (enjeksiyonsuz grup), PK=pozitif kontrol (0.2 ml distile su enjeksiyonu), L=lizin (2 mg/0.2 ml) M=metiyonin (2 mg/0.2 ml), LM=lizin metiyonin (1+1 mg/0.2 ml). Kuluçka çıkım aralığı 32 saat sürmüştür. Çıkım sırasında ilk 6 saat ve son 6 saat diliminde çıkan civcivler çıkım aralığını dengelemek için deneme dışı bırakılmışlardır. Kuluçkadan sonra 120 adet bir günlük yaşta sağlıklı civcivler 21 günlük deneme için her tekerrürde 8 adet karışık cinsiyette olacak şekilde 3 tekerrürlü 5 muamele grubuna yerleştirilmişlerdir. Bu civcivler deneme boyunca 3080 Kcal ME/kg ve %22 HP içeren etlik civciv başlangıç yemiyle beslenmişlerdir. Araştırma sonuçları in ovo lizin, metiyonin veya lizin-metiyonin karışımı enjeksiyonunun etlik civciv ağırlığı, yaşama gücü, büyüme performansı, bağırsak mikrobiyotası ve ileum histomorfolojisini etkilemediğini göstermektedir. İn ovo lizin enjeksiyonu kuluçka randımanını negatif kontrol ve metiyonin grubuna göre arttırdığı ve ayrıca sindirim sistemi uzunluğunu negatif kontrol grubuna göre arttırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak; 2 mg/0.2 ml in ovo lizin enjeksiyonu, kuluçka randımanını arttırmak için kullanılabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İn ovo besleme, amino asit, broiler, performans

## ABSTRACT

The effects of in ovo injection of lysine and methionine to fertile broiler eggs on hatchability, growth performance, gastro intestinal tract development, gut microbiota and ileal histomorphology

The effect of in ovo injection of lysine, methionine or mixture to fertile broiler eggs on hatchability, chick weight, growth performance, digestive tract development, caecal *Total Aerobic Bacteria*, *E.coli*, *Coliforms*, *Enterobacteriaceae* and ileal histomorphology of broilers were investigated. 300 fertile eggs obtained from 60 week old ROSS 308 broiler breeders were used. Before this study, three different preliminary studies were conducted to determine the optimal amino acid (aa) dose. Optimum aa dose was determined as 2 mg/0.2 ml. Before the hatch, 300 eggs were weighed individually and numbered. On day 16 of incubation these eggs were allocated to treatment groups. NC= negative control (no injection), PC= positive control (distile water injection 0.2 ml), L= lysine (2 mg/0.2 ml), M= methionine (2 mg/0.2 ml) and LM= lysin + methionine (1+1 mg/0.2 ml). Hatching window lasted 32 hours. During the hatching, the first and the last 6 hour hatched chicks were discarded from study to ensure equal hatching time. After hatching, 120 day old healthy chicks were housed in three replicate and 5 treatment groups according to belonging treatment groups for 21 days. These chick were fed on starter diet (3080 Kcal ME and 22% HP) during the trial. The results showed that in ovo injection of L, M and LM did not affect relative chick weight, livability, growth performance, gut microbiota and ileal villi length and thickness. In ovo injection of L increased hatchability compared to NC group and digestive tract length compared to C group. To conclude, in ovo 2 mg/0.2 ml lysine injection had a positive impact on hatchability of fertile eggs.

**Key words:** In ovo feeding, amino acid, broiler, performance.

## TEŞEKKÜR

Bu eserin ortaya çıkışında benden desteklerini esirgemeyen ve bana yol gösteren danışman hocam Yrd. Doç. Dr. İsa COŞKUN ve tezimin yürütülmesinde benden yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Araş. Gör. Hüseyin ÇAYAN ve Salih GÜLEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Bugünlere gelmemde emeği geçen, Lisans Danışman hocam Prof. Dr. Güray ERENER olmak üzere tüm bölüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Çalışmada kullandığım etlik tavuk yumurtalarını temin etmem de bana destek olan BAK Piliç A.Ş. ve Bey Piliç A.Ş.'ye şükranlarımı sunarım. Projeye PYO–ZRT. 4003/2.13.001 numarasıyla finansal kaynağını sağlayan Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na, her zaman benim yanımda olan, bana destek veren aileme ve dostlarıma minnetlerimi sunar ve teşekkür ederim.

Ayşenur AKKAN

Kırşehir, 2015

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	3
2.1. Embriyonun Gelişimi.....	3
2.2. Enjeksiyon Zamanı ve Derinliğinin Önemi.....	4
2.3. Embriyoda Enerji Gereksinimi ve Glikojen Metabolizması.....	5
2.4.Embriyonik Dönemde Beslemenin Embriyo Gelişimi ve Sindirim Kapasitesine Etkileri.....	6
2.5. İn Ovo Besleme ile Kuluçka Sonrası Gelişim ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	8
2.6. İn Ovo Beslemede Amino Asitlerle Yapılmış Çalışmalar.....	10
3. MATERYAL VE METOT.....	14
3.1. Yumurta ve Kuluçka Materyali.....	14
3.2. Araştırmada Kullanılan Sentetik Amino Asit Materyali.....	14
3.3. Uygun Dozun Bulunması İçin Yapılan Denemeler.....	14
3.4. Deneme Deseni ve Enjeksiyon Solüsyonlarının Hazırlanması.....	15
3.5. İn Ovo Enjeksiyon.....	15
3.6. Yem Materyali.....	19
3.7. Denemenin Yürütülmesi.....	19
3.8. Kesim ve Örnek Alma.....	20
3.9. Sekum Mikroorganizmalarının Tespiti.....	21
3.10. İleum Örneklerinin Alınması ve Histomorfolojisi.....	23
3.11. İstatistik Analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25

4.1. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Büyüme Performansı Üzerine Etkileri.....	25
4.2. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Çıkım Gücü, Kuluçka Randımanı ve Oransal Cıvıv Ağırlıkları Üzerine Etkileri.....	26
4.3. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun İç Organ Ağırlıkları Üzerine Etkileri.....	27
4.4. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun İleum Histomorfolojik Özellikleri Etkileri.....	29
4.5. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Sekum Toplam Canlı Bakteri, <i>E.coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Coliform</i> Bakterileri Üzerine Etkileri.....	30
5. TARTIŞMA.....	31
6. KAYNAKLAR.....	34



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.</b> Yemlerin Kimyasal Kompozisyonu (%).....	19
<b>Çizelge 2.</b> Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Haftalık Canlı Ağırlık Artışı, Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranları Üzerine Etkileri.....	25
<b>Çizelge 3.</b> Döllü Etlik Piliç Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Kuluçka Randımanı ve % Cıvciv Ağırlığı Üzerine Etkileri.....	27
<b>Çizelge 4.</b> Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun İç Organ Ağırlıkları Üzerine Etkileri.....	28
<b>Çizelge 5.</b> Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun İleum Histomorfolojik Özellikle Üzerine Etkileri.....	29
<b>Çizelge 6.</b> Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Sekal Mikroorganizma Sayıları Üzerine Etkileri (kob/g).....	30

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Yumurtaların % 70'lik etil alkolle dezenfekte edilmesi.....	17
<b>Resim 2.</b> Yumurtların dezenfekte edilen küt kısımdan iğne ile delinmesi.....	17
<b>Resim 3.</b> Yumurtalara in ovo enjeksiyon yapılması.....	18
<b>Resim 4.</b> İn ovo enjeksiyon yapılan yumurtaların bant yardımıyla kapatılması	18
<b>Resim 5.</b> TCB, <i>E.coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>Coliform</i> görüntüleri.....	22
<b>Resim 6.</b> İleumdan örnek kesit görüntüsü.....	23

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>CA</b>	Canlı Ağırlık
<b>CAA</b>	Canlı Ağırlık Artışı
<b>HMB</b>	B-Hidroksi-B-Metil Butirat
<b>Kcal</b>	Kilokalori
<b>HP</b>	Ham Protein
<b>IGF-I</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri
<b>L</b>	Lizin
<b>M</b>	Metiyonin
<b>LM</b>	Lizin Metiyonin
<b>ME</b>	Metabolik Enerji
<b>NK</b>	Negatif Kontrol
<b>PK</b>	Pozitif Kontrol
<b>OSH</b>	Ortalamanın Standart Hatası
<b>TCB</b>	Toplam Canlı Bakteri
<b>YT</b>	Yem Tüketimi
<b>YDO</b>	Yem Dönüşüm Oranı

## 1. GİRİŞ

Kuluçka sırasında elde edilen büyük civcivlerin besi performanslarının hafif civcivlerin besi performanslarından yüksek olduğu bildirilmiştir (Ohta ve ark., 2001). Dolayısıyla etlik piliçlerde performansın yüksek oluşu büyük ticari işletmeler için karlılık açısından çok önemlidir. Bu nedenle etlik piliçlerde performansı arttırmak için kuluçka aşamasında büyük yumurta kullanımı veya etlik piliç civcivlerinin kuluçka sonunda yeme zaman kaybetmeden ulaşmaları ile performanslarının arttığı birçok araştırmada belirlenmiştir (Uni ve ark., 2000; Geyra ve ark., 2001).

Etlik piliç yetiştiriciliğinde de karlılığın artırılması için, son dönemlerde civcivlerin embriyonik dönemde iken farklı besin maddeleri ile beslenmeleri sağlanarak kuluçka aşamasında daha ağır ve sindirim sistemi gelişmiş civciv elde edilmesi yönünde yapılan çalışmalarda başarı elde edilmiştir. Bu çalışmalara örnek olarak, yapılan çalışmalarda NaCl, sukroz, maltoz ve dextrin ilavesinin (Uni ve Ferket, 2004; Uni ve ark., 2005),  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metil butirat (Tako ve ark., 2004), arginin (Foye ve ark., 2005a,b), albümin (Foye ve ark., 2003a,b,2006) ve çinko-metiyonin enjeksiyonunun (Tako ve ark., 2005) etlik piliçlerde performansı arttırdığı bildirilmiştir.

Yapılan bir araştırmada amniyotik sıvıya farklı amino asit karışımı enjeksiyonu ile embriyonun kuluçka aşamasında daha fazla geliştiği tespit edilmiştir (Ohta ve ark., 2001). Embriyonik dönemde iken civcivlerin farklı besin maddeleriyle beslenmeleri ile civcivlerin kuluçka aşamasında ağırlık kazanarak kuluçkadan çıkıştan sonra normal yemleme ile performansın artırılması için farklı besin maddelerinin de araştırılması gerekmektedir. Lizin ve metiyonin amino asitlerin bu besin maddeleri arasındadır.

Metiyonin apolar bir amino asit ve vücuttaki yağların metabolik olarak yakılmasını hızlandıran lipotropik bir moleküldür. Çok düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin temel bileşimi olan fosfolipidlerin sentezi için gerekli bir metil grupları donörüdür. Metiyonin hayvanların vücudunu oluşturan proteinlerin yapısına giren esansiyel, kükürtlü bir aminoasittir. Canlılar tarafından sentezlenemediği için beslenme yoluyla dışarıdan temin edilmesi şart olan temel aminoasitlerden biridir.

Özellikle etlik piliçlerde hızlı büyüme, tüy gelişimi ve yumurta tavuklarında ayrıca yumurta üretimi için metiyonine gereksinim vardır.

Lizin amino asidi esansiyel bir amino asittir. Ticari rasyonlarda kükürtlü amino asitlerden sonra lizin ikinci derecede sınırlayıcı amino asittir. Kalsiyum emilimi, kas proteinlerinin inşası, ameliyat sonrası ve spor yaralanmaları sonrası iyileşme sürecinde, vücut tarafından hormonların, antikörlerin ve enzimlerin sentezinde önemli role sahip olduklarından dolayı embriyonik dönemde lizin ve metiyonin ile besleme de araştırılması gereken konuların başında gelmektedir.

Erkek etlik piliç civcivler üzerinde yapılan bir araştırmada (Schutte ve ark., 1997) mısır ve soyadan oluşan bir rasyon ile ticari etlik piliç rasyonu kullanılmış ve rasyonlara DL-metiyonin (% 0.05, 0.10) ile betain (% 0.04) katılmıştır. Artan DL-metiyonin ilavesi ile günlük canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanmanın 38 günlük deneme sonunda önemli derecede etkilendiği belirtilmiştir. Ayrıca rasyonlara % 0.05 düzeyinde katılan DL-metiyonin karkas randımanını önemli derecede ( $P<0.01$ ) artırmıştır.

Kerr ve ark. (1999) rasyona lizin ilavesinin göğüs eti gelişimi üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada Holsheimer ve Ruesink (1993) rasyona lizin ilavesinin miktarının arttırıldığında erkek etlik piliçlerdeki göğüs eti miktarının da arttığını bildirmişlerdir.

Ohta ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada kuluçkadan yeni çıkan civcivlerin kan plazmalarını incelemişler ve elde ettikleri sonuçlara göre lizin ve metiyonin amino asitlerinin diğer amino asitlere göre plazmadaki değerlerinin düşük olduğunu, ayrıca kuluçka sırasında çıkartılan embriyoların dokularında yine lizin ve metiyonin amino asitlerinin seviyelerinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Kuluçkanın sonlarına doğru amniyotik sıvıdan gelen amino asitler içerisinde lizin ve metiyonin amino asitlerinin seviyelerinin düşük olduğu ve bu iki amino asidin seviyeleri arttırılarak kuluçka randımanı ve büyüme performansının arttırılabileceği düşünülmüştür.

Dolayısıyla bu yüksek lisans tez projesinin konusunu da döllu parent stock yumurtalarına kuluçkanın 16. gününde lizin ve metiyonin amino asitlerinin enjeksiyonun etlik piliçlerdeki kuluçka randımanı ve 21 günlük besi performansı üzerine etkileri araştırılacaktır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

### 2.1. Embriyonun Gelişimi

Kanatlı embriyoları kalsiyumdan oluşan kabukla çevrelenir ve yumurta, tavuğun vücudunda oluşarak embriyo gelişmeden önce yumurtlanır. Kanatlı embriyoları yumurta içerisinde var olan sınırlı besin maddelerine ve enerjiye sahiptir. Memeli embriyoları annenin termoregülasyonu sayesinde gelişimine uterusunda devam ederken, kanatlı embriyolarının gelişimi için kuluçka sırasında termoregülasyon dışarıdan ayarlanmaktadır. Döllü yumurtalarda embriyonun tamamen gelişmesi için kuluçka aşamasında sıcaklık ve nem dengesi sağlanmak zorundadır, bu yüzden kanatlı yumurtaları kuluçka periyodu boyunca kuluçka makinesine bağlıdır. Embriyonik gelişim süreci boyunca, embriyonun ağırlığı artar fakat kuluçka sonuna doğru büyüme hızı yumurtadaki besin maddelerinden enerjinin sağlanması ve besin maddelerinin azalması nedeni ile yavaşlar. Embriyonik gelişimin başlarında yumurta sarısı zarının yüzey alanı gelişerek artar. Çünkü embriyo yumurta sarısının zarına tutunarak gelişir. Embriyonun sarıya tutunarak gelişiminin amacı sarının embriyoyu besleyen asıl bölüm olmasından ve yumurtadaki bütün besin maddelerinin yumurta sarısına geçerek embriyonun beslenmesinin sağlanmasından kaynaklanmaktadır. Sunny (2008) kuluçkanın ilk haftasında albüminin suyun yumurta sarısına geçmesinden dolayı yumurta sarının ağırlığının arttığını ve albümin ağırlığının azaldığını ayrıca albüminin katı maddelerin sarıya geçişinin kuluçkanın 13. gününe kadar devam ettiğini ve bu maddelerin amniyotik sıvıya da geçerek embriyo tarafından ağızdan alınarak embriyoda ilk sindirimi başlattığını bildirmiştir. Embriyo gelişimi devam ettiği süre içerisinde de bu zar boyut olarak küçülmeye başlar. Çünkü yumurta sarısındaki besin maddeleri kuluçkanın son dönemlerinde embriyo tarafından tüketilmeye başlanır. Embriyonun gelişimi için bütün besin maddeleri ve su yumurta içerisinde depolanmıştır. Yumurta sarısı, % 32 yağ, % 17 protein ve % 1 karbonhidrat ve % 50 su içerirken albüminin % 87 su ve % 11 protein içerdiği bildirilmiştir (Starck ve Ricklets, 1998). Embriyonik gelişimin başlarında embriyo için gerekli olan embriyonik keseler gelişir. Bunlar; besin maddesi absorpsiyonu için yumurta sarısı kesesi, gaz değişimi için koriallantois, yumurta akının sindirilmesi için allantoik kese, akciğer gelişinceye kadar geçici embriyonik solunum ve boşaltım

için allantois keseleridir. Bu keselerin boyutları yumurta tarafından sınırlandırılır ve bu yüzden embriyonik büyüme ve gelişim hem yumurta içerisinde depolanan enerji ve besin madde miktarına hem de bu keselerin kapasitelerine bağlıdır. Yumurta sarı kesesini kaplayan yumurta sarısı zarının besin madde absorpsiyonunu sağlamasına ilave olarak en önemli görevleri; embriyo için kan damarlarının oluşumu, kan hücrelerinin oluşumu, lenf sisteminin oluşumu ve kök hücrelerinin oluşumunun sağlanmasıdır. Embriyonun gelişimini takiben ilk hafta sonunda epitel hücreler ve damar ağları yumurta sarısını sarar. Yumurta sarısındaki absorpsiyon yumurta sarısını saran kan damarı ağının içindeki difüzyon ile epitel hücreler vasıtasıyla gerçekleşir. Çıkıştan önce yumurta sarısının sindirilmeyen kısımları embriyonun vücut boşluğunda depolanır ve çıkıştan sonra ilk birkaç gün enerji kaynağı olarak kullanılır. Amniyon kesesi embriyoyu sarar ve embriyoyu koruyan amniyotik sıvıyı salgılar. Çıkıştan hemen önce embriyo amniyotik sıvıyı su ve besin maddeleri gereksinimi için tüketir. Koriyon ise hem embriyoyu hem de amniyon kesesini sarar ve koruyucu zar olarak görev yapar. Allantois kesesi embriyo tarafından üretilen toksik olmayan metabolik kalıntıların depoladığı kesedir ve allantois koriyonla birlikte karbondioksit ve oksijen değişiminde beraber görev yapar. Embriyo büyüdükçe kesenin büyüklüğü de artar, sonunda koriyon kesesi tarafından çekilerek koriyoallatoik kesesi oluşturur.

## **2.2.Enjeksiyon Zamanı ve Derinliğinin Önemi**

İn ovo besleme ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; standart bir enjeksiyon zamanı ve derinliğinin olmadığı görülmektedir (Moghaddam ve ark, 2013,2014). Enjeksiyon zamanı ve derinliğinin belirlenmesinde yapılan çalışmanın amacı ve embriyonun gelişim döneminin bilinmesi önemlidir. Zira kanatlı türlerinin kuluçka sürelerinin farklı oluşu ve embriyonun gelişim sürecinde kabuk altındaki pozisyonu, enjeksiyon uygulamasında hayati öneme sahiptir. Embriyonik gelişim sürecinde in ovo besin maddelerinin doku gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesinde en uygun enjeksiyon zamanı için embriyonun besin maddelerinden en iyi yararlanacağı dönem seçilmektedir. Bu dönemler ise embriyonun amniyotik sıvıyı ağızdan almaya başladığı dönemlerdir. Ayrıca sürü yaşı, genetik özellikler, kuluçka koşulları ve yumurta boyutları enjeksiyonun yapılacağı bölge, in ovo

enjeksiyon zamanını etkilemektedir (Ferket, 2006). Enjeksiyon zamanı ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, in ovo besleme çalışmalarının ilk kuluçkanın birinci haftasında yapılmaya başlandığı görülmektedir. Ohta ve ark. (1999,2001) çalışmalarında kuluçkanın 1. ve 7. günlerinde hava boşluğuna ve yumurta sarısına kuluçkanın ilk dönemlerinde enjeksiyon uygulamasının kuluçka randımanını önemli derecede düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

### **2.3.Embriyoda Enerji Gereksinimi ve Glikojen Metabolizması**

Embriyonik gelişim sırasında embriyonun enerji gereksiniminin % 90'ı yumurtadaki lipitlerin oksidasyonundan elde edilir (Sato ve ark., 2006). Kuluçkanın ikinci yarısında yumurtadaki lipitlerin oranının düşüşü, lipitlerin embriyo tarafından 13. günde % 65, 21. günde % 44 düzeyinde absorbe edildiğini gösterir (Deeming ve Ferguson, 1991). Embriyo gelişimi sırasında yağ asitlerinden protein ve karbonhidratlara göre ağırlık artışı için iki kat enerji sağlar. Kuluçkanın ilk dönemlerinde embriyo yumurta sarısındaki lipitlerin az bir kısmını tüketir. Asıl tüketim ise kuluçkanın son aşamalarında çıkım aşamasında olur. Karaciğer tarafından lipitlerin tüketimi kuluçkanın 15. ve 18. günlerinde önemli derecede artar, keza bu dönemde karaciğer % 15 ağırlık artışı gösterir (Peebles ve ark., 1999). Kuluçkanın sonlarına doğru deri altında yağ depolanmaya başlar ve embriyonun yumurta lipitlerinin % 25'inin deri altı adipoz dokuda depolandığı ve bu yağ depolarının kuluçka için enerji kaynağını sağladığı bildirilmiştir (Speake ve ark., 1998). Büyük yumurtalardaki embriyolarda küçük yumurtalardaki embriyolara göre daha fazla yağın adipoz dokuda depolandığı bildirilmiştir (Pearce, 1971; Speake ve ark., 1998).

Kanatlı embriyolarındaki glikojen rezervlerinin ise çıkış için gerekli enerjiyi sağladığı ve çıkışa doğru glikojen miktarının önemli derece azaldığı bildirilmiştir (Christensen ve ark., 2000,2001). Hepatik glikojen kuluçkanın ilk 6 gününde depolanmaya başladığı, 12. günde pik yaptığı, 13. günde % 50 düştüğü ve sonra 18. güne kadar % 400 düzeyinde arttığı bildirilmiştir (Hazelwood, 1971). Glikojen depolanması kuluçka için enerjinin hayati kaynağı olup çıkışından itibaren yaşamın başlamasıyla karaciğer glikojen seviyesi % 40'tan % 16'ya kadar düşer (Moran, 2007). Kuluçka sırasında embriyonun vücut ağırlığı ve farklı dokulardaki glikojen



rezervleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu birçok araştırıcı tarafından bildirilmiştir (John ve ark., 1988; Christensen ve ark., 1999; Christensen ve ark., 2001). Farklı dokulardaki glikojen depoları enerji gereksinimi için kas proteininin yıkımının azalmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (Uni ve ark., 2005). Uni ve Ferket (2003) hindi yumurtalarına  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metil Butirat (HMB) enjeksiyonunun kan glikojen seviyesini negatif kontrol grubuna göre % 40 arttırdığını ve çıkış oranının hem hindi hem de tavuk embriyolarının dokularındaki glikojen seviyeleri ile aralarında pozitif bir korelasyona sahip olduklarını bildirmişlerdir. Uni ve Ferket (2004) ve Uni ve ark. (2005) döllü etlik tavuk yumurtalarına karbonhidrat, protein ve HMB enjeksiyonunun civcivlerin canlı ağırlığını, pektoral kas ve but eti miktarını ve kan glikojen miktarını % 47-75 arttırdığını bildirmişlerdir.

#### **2.4.Embriyonik Dönemde Beslemenin Embriyo Gelişimi ve Sindirim Kapasitesine Etkileri**

Kuluçka ıkışı öncesi ve sonrasındaki birkaç gün, kanatlı hayvanların yaşaması ve gelişmesi için kritik dönemlerdir. Bu dönemlerde kanatlılar kuluçkadan çıktıktan sonra yumurtadan aldıkları besin maddelerinden dış kaynaklı besin maddelerine geçiş yaparlar. Yapılan birçok çalışmada kuluçka aşamasında amniyotik sıvıya besin maddesi enjeksiyonu ile sindirim sisteminin daha hızlı geliştiği ve kuluçkadan sonra yemden yararlanmanın arttığı (Geyra ve ark., 2001a) anlaşılmış, sonra etlik tavuk yetiştiriciliğinde kuluçka aşamasında besin madde enjeksiyonu ile embriyonik gelişimin ve embriyolardaki sindirim sisteminin daha hızlı gelişerek çıkıştan itibaren etlik piliçlerde daha hızlı büyüme kaydedildiği bildirilmiştir (Tako ve ark., 2004; Tako ve ark., 2005; Foye ve ark., 2005b).

İn ovo beslemenin asıl amacının embriyoların fonksiyonel olarak besin maddelerini sindirme ve absorbe etme kapasitesini arttırmak, genetik kapasitelerinin müsaade ettiği verim seviyelerine kadar büyümelerini sağlamak olduğu bildirilmiştir (Ferket, 2006). Bu amaçla yapılan bir çalışmada (Uni ve Ferket, 2004) kuluçkanın 17. gününde 1 ml solüsyona % 10 maltoz, sükroz ve % 5 dekstrin enjekte ettikleri çalışmalarında enjeksiyondan 48 saat sonra jejunum uzunluğunun negatif kontrol grubuna göre % 50 düzeyinde arttığını ve villilerdeki skraz-izomaltaz, aminopeptidaz enzimlerinin artış gösterdiğini belirtmişlerdir (Uni ve Ferket, 2004;

Tako ve ark., 2004). Ayrıca in ovo besleme ile civcivlerin bağırsaklarındaki mikrovillilerin negatif kontrol grubuna göre daha fazla yüzey alanına sahip olduğu, yine in ovo besleme ile bağırsak yüzeyindeki patojenlere karşı müsin bariyeri oluşumunun negatif kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu bildirmişlerdir (Smirnov ve ark., 2006). Başka bir çalışmada ise in ovo besleme ile bağırsak yüzeyindeki mikrovillilerde bulunan ve sindirim için gerekli enzimlerin arttığını ve aktivitelerinin yükseldiğini ayrıca bağırsak yüzeyinde besin madde transferini sağlayan taşıyıcıların artışının sağlandığını bildirmişlerdir (Tako ve ark., 2005; Foye ve ark., 2005b).

Tako ve ark. (2004) kuluçkanın 17. gününde kuluçkalık yumurtalara HMB ve karbonhidrat (maltoz 25 g/l, sukroz 25 g/l, dextrin 200 g/l ve NaCl 5g/l) enjeksiyonu sonucunda kuluçkadan çıkıştan 3 gün sonra canlı ağırlığın, bağırsak villi boyunun ve villi yüzey alanının, bağırsaklardaki sindirime yardımcı enzimlerin aktivitelerinin arttığını tespit etmişler ve bu gelişmelerden dolayı piliçlerin in ovo besleme ile daha yüksek canlı ağırlık kazanabileceklerini bildirmişlerdir. HMB esansiyel amino asit olan lösinin prekürsörüdür ve maksimum hücre büyümesini sağladığı ve enterositlerin çoğalması ve değişimini etkileyebildiği bildirilmiştir (Nissen ve Abumarad, 1997; Peterson ve ark., 1999). HMB enjeksiyonu ile ilgili yapılan başka çalışmalarda (Foye ve ark., 2005a,b) in ovo HMB besleme ile hindilerde bağırsak mukoza enzimlerinin aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.

Ferret (2006) in ovo besleme ile kanatlıların bağırsaklarındaki mukozanın koruyucu fonksiyonun arttırılabileceğini bildirmiştir. Smirnov ve ark. (2006) kuluçka sırasında bağırsak yüzeyi alanının in ovo besleme ile arttığını gözlemlemiştir. Yine aynı çalışmada kuluçkadan çıkıştan 3 gün sonra negatif kontrol grubuna göre in ovo beslenen civcivlerin villi yüzey alanlarının negatif kontrol grubuna göre % 27 ve % 21 daha yüksek olduğunu, in ovo beslemeden 36 saat sonra asidik müsin salgısını sağlayan goblet hücrelerinin sayısının negatif kontrol grubuna göre % 50 arttığını bildirmişlerdir. Bu nedenle in ovo besleme ile civcivlerin kuluçkadan çıkıştan sonra patojenlere karşı dayanıklı bakteri popülasyonu sağlanabileceği bildirilmiştir (Ferret, 2006; Smirnov ve ark., 2006).

Besin maddelerini sindirmede ve yeme alışmada sindirim sisteminin fiziksel ve fonksiyonel gelişimini sağlamak için çıkıştan sonra civcivler sınırlı vücut rezervlerini tüketirler ve hemen sonra civcivlerde bağırsağın fonksiyonel kapasitesi

artar ve yemleri sindirerek civcivler genetik kapasitesinin izin verdiği büyüklüğe kadar büyürler, metabolik rahatsızlıklara ve enfeksiyonlara direnç sağlarlar (Uni ve ark., 2003a,b; Uni ve Ferket, 2004). Bağırsağın gelişimi kuluçka boyunca devam etse de, bağırsağın fonksiyonel olarak aktif olmasının kuluçkanın 16. ve 17. günlerinde embriyonun amniyotik sıvıyı ağızdan alması ile başladığı, ince bağırsağın ağırlığının, kuluçkanın 17. gününde embriyo ağırlığının % 1'i iken kuluçkadan çıkışta % 3.5'e ulaştığı bildirilmiştir (Romanoff, 1960). Sindirim sistemi kapasitesinin kuluçkadan birkaç gün önceden gelişmeye başlamasına rağmen, gelişimin çoğu kuluçkanın sonlarına doğru besin maddelerinin ağızdan alınmasına başlaması ile gerçekleşir. Kuluçka sonlarında bağırsağın büyüme hızı vücudun büyüme hızından daha fazladır (Katanbaf ve ark., 1988; Sell ve ark., 1991; Sklan, 2001) fakat bu dönemde enterositlerin sayısında hızlı bir artış görülmektedir (Geyra ve ark., 2001a). Embriyonun amniyotik sıvıyı ağızdan aldığı dönemde ilave besin maddeleriyle takviye edilmesinin enterosit gelişimini hızlandıracağı, sindirim kapasitesini ve besin maddelerinin sindirimini arttırabileceği bildirilmiştir (Geyra ve ark., 2001a). Embriyonik amniyon sıvısına izotonik sıvı besin maddelerinin in ovo yolla enjekte edilerek embriyonun çıkış öncesi amniyon sıvısına sağlanan besin maddelerini ağızdan almaları sağlanabilir. İn ovo besleme ile civcivlerin çıkıştan hemen sonra olması istenilenden daha erken gelişmeleri sağlanabileceği bildirilmiştir (Ferket, 2006).

## **2.5. İn Ovo Beslemede Kuluçka Sonrası Gelişim İle İlgili Yapılan Çalışmalar**

Sindirim sisteminin kuluçkadan birkaç gün önceden gelişmeye başlamasına rağmen gelişimin çoğunun civcivlerin yem tüketimine başlaması ile olduğu bildirilmiştir (Ferket, 2006). Kuluçkadan sonra ince bağırsağın gelişiminin vücudun gelişim hızından daha yüksek olduğu (Katanbaf ve ark., 1988; Sell ve ark., 1991; Sklan, 2001) bunun nedeninin de bağırsaklardaki enterositlerin çoğalması ve değişmesinden kaynaklandığı (Geyra ve ark., 2001a) bildirilmiştir. Ek olarak kuluçka döneminde şekillenmeye başlayan bağırsak mikrovillilerinin kuluçkadan hemen sonra yem tüketimi ile hücre sayısı ve ebadının hızlı bir şekilde değiştiği bildirilmiştir (Uni ve ark., 2000; Geyra ve ark., 2001a). Noy ve Sklan (1998)

kuluçkadan hemen sonra civcivleri beslemenin ince bağırsak morfolojisinin değişimini ve gelişimini hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Kuluçkadan çıktıktan sonra civcivlerin ilk yemleme zamanının gecikmesi ile büyüme performanslarının, organ gelişimlerinin, bağışıklık sisteminin ve sindirim enzimlerinin aktivitelerinin olumsuz etkilendikleri bildirilmiştir (Bar-Shira ve ark., 2005; Willemsen ve ark.; 2010). Ayrıca, Bar-Shira ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada ilk yemleme zamanının gecikmesinin ilerleyen durumlarında civcivlerin bağırsaklarındaki gelişme düzeylerinin yeme erken ulaşanlardan 2 haftalık dönemde daha düşük olduğunu bildirmektedirler. Zira etlik piliçlerin 48 saat süre ile aç kalmaları sonucunda 4.7 g ağırlık kaybının olduğu ve yeme erken ulaşan piliçlerin aynı dönemde 11.3 g canlı ağırlık kazandığı Panda ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada belirlenmiştir. Ayrıca, Panda ve ark. (2006) 48 saat aç kalan piliçlerin vücut ağırlığındaki kaybın kesim aşamasına kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. Maiorka ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada kuluçka çıkışını takiben 48 saat aç bırakılan piliçlerin duodenum, jejunum ve ileum gelişiminin yeme erken ulaşan piliçlerden oldukça düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Bigot ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada 48 saat aç bırakılan civcivlerin ilk yemlemeye kadar % 25 canlı ağırlık kaybına uğradıklarını bildirmişlerdir. Kuluçkadan sonra 48 saat aç kalan civcivlerin ilk 6 gün sonunda 100 g canlı ağırlığa ulaşırken yeme erken ulaşan piliçlerin (kuluçkadan çıkıştan 6 saat sonra yemlemeye başlayan) 140 g canlı ağırlığa ulaştıklarını bildirmişlerdir. Bhanja ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada 48 saat aç kalan piliçlerin karaciğer, jejunum ve ileum gelişiminin daha erken dönemlerde yeme ulaşan piliçlerinkinden daha yavaş geliştiğini bildirmişlerdir. Uni ve ark. (1998), Geyra ve ark. (2001a) ve Uni ve ark. (2003b) kuluçka sonrası yemlemenin geç yapılmasının ince bağırsak mukozasının gelişimini baskıladığını bildirmişlerdir. Yamauchi ve ark. (1996) ve Geyra ve ark. (2001b) kuluçkadan çıkıştan sonra ilk yemin verilisinin 24-48 saat geciktirildiğinde villi boyu, kript boyu ve miktarının düştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, Uni ve ark. (2003a) kuluçkadan çıkıştan sonra yemlemenin 48 saat gecikmesi ile ince bağırsaklarda koruyucu etki yapan ve sindirime yardımcı münin oluşumunda değişikliğe neden olduğunu bildirmişlerdir. Kuluçkanın son dönemlerinde civcivlerin büyümesi yumurta sarısında kalan besin maddelerine bağlıdır (Uni ve Ferket, 2004).

Yemlemenin ve sulamanın gecikmesi civcivlerde % 5 üzerinde ölüm ve yavaş gelişme, hastalıklara karşı direncin düşmesi ve kas gelişiminin yavaşlamasına neden olduğu (Uni ve Ferket, 2004) bildirilmektedir.

## **2.6. İn Ovo Beslemede Amino Asit Kullanımı ile Yapılmış Çalışmalar**

Ohta ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada 0 ve 7. günlerde döllu etlik tavuk yumurtalarının amniyotik sıvılarına ve hava boşluklarına 0.5 ml sıvı amino asit karışımı enjekte etmişler, yaptıkları çalışmanın sonunda hava boşluğuna ve amniyotik sıvıya amino asit solüsyonu ve distile su enjeksiyonunu kuluçka randımanını negatif kontrol gruplarına göre düşürdüğünü belirlemişlerdir. Aynı çalışmada 7. günde amniyotik sıvıya 0.5 ml lizin ve metiyonin içeren amino asit karışımı enjeksiyonunun oransal civciv ağırlığını (başlangıç yumurta ağırlığı/civciv ağırlığı) arttırdığını belirtmişlerdir.

Ohta ve Kidd (2001) yaptıkları çalışmada kuluçkanın 7. gününde yumurtanın küt ucunda 13 mm ve 19 mm derinliğine 0.5 ml lizin ve metiyonin içeren amino asit karışımı enjeksiyon etmişler çalışmanın sonunda 19 mm derinliğe amino asit karışımı enjeksiyonunun kuluçka randımanını negatif kontrol ve 13 mm derinliğe enjeksiyon yapılan gruplardan düşürdüğü, oransal yumurta ağırlığını ise sadece 13 mm derinliğe enjeksiyonun diğer gruplara göre arttırdığını bildirmişlerdir.

Foye ve ark. (2006) döllu hindi yumurtalarına 1.5 ml arjinin ve HMB enjeksiyonu uygulamışlar, yaptıkları çalışmada % 0.9 tuzlu su içerisinde % 0.2, % 0.7, % 7.7, % 15.4, % 23 ve % 30.7 arjinin ve % 0.1 HMB içeren solüsyonları kuluçkanın 23. gününde yumurtaların amniyotik sıvılarına enjeksiyon yapmışlardır. Amniyotik sıvıya enjeksiyonun doğru bir şekilde yapılabilmesi için daha önceden yaptıkları enjeksiyon hesaplamalarında 15 mm enjeksiyon derinliği kullanmışlardır. Çalışmanın sonunda hindi palazlarının canlı ağırlıkları negatif kontrol ve pozitif kontrol grupları arasında benzer bulunmuş % 7.7 arjinin içeren solüsyonun enjeksiyonunun embriyolarda letal etkiye neden olduğunu tespit etmişler bu nedenle çalışmada % 0.7 ye kadar arjinin kullanmışlardır. Çalışmanın sonunda kuluçkanın 23. gününde 15 mm derinliğe % 0.1 HMB, % 0.7 arjinin ve % 0.7+% 0.7 HMB enjeksiyonun kuluçkadan çıkımda oransal civciv ağırlıkları negatif kontrol grubuna göre arttırdığını kuluçkadan çıkıştan 1 gün sonra ise % 0.7+% 0.7 HMB

enjeksiyonun hindilerin canlı ağırlıklarını negatif kontrol ve % 0.7 arjinin enjekte edilen gruplara göre canlı ağırlığını arttırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada kuluçka randımanının bütün gruplarda ortalama % 96 olduğunu çıkım sonrası ölüm oranının bütün gruplarda yine % 1 olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada 14 günlük canlı ağırlık artışında arjinin ve HMB interaksiyonunun önemsiz olduğunu fakat 14 günlük yaşta HMB enjeksiyonun canlı ağırlık kazancı üzerine etkisinin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Kuluçkadan çıkışta civcivlerden alınan kan plazmalarında yapılan IGF-I (insülin benzeri büyüme faktörleri) analizlerinde % 0.7+% 0.7 HMB enjeksiyonunun diğer bütün gruplara göre yüksek seviyede IGF içerdiğini belirtmişlerdir. Yapılan bütün enjeksiyonların kuluçkadan çıkışta kan glikojen seviyelerini negatif kontrol grubuna göre önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Kadam ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada döllu etlik tavuk yumurtalarına kuluçkanın 14. gününde 0.5 ml distile su içerisinde 10, 20, 30 ve 40 mg treonin enjeksiyonu uygulamışlar çalışmanın sonunda 30 mg treonin enjeksiyonunun oransal civciv ağırlığını negatif kontrol ve pozitif kontrol gruplarına göre attırdığını kuluçka randımanı, enjeksiyon öncesi ve sonrası ölüm oranlarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca treonin enjekte edilen grupların 21 ve 28 günler arası etlik civcivlerin canlı ağırlık artışlarını negatif kontrol grubuna göre iyileştirdiğini yem tüketimi ve yemden yararlanmayı etkilemediğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonunda treoninin in ovo besin maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Gaafar ve ark. (2013) döllu ördek yumurtalarına iki farklı seviyede amino asit karışımı enjeksiyonu uyguladıkları çalışmada kuluçkanın 12. gününde 0.5 ml ve 0.75 ml amino asit karışımı ve distile su enjeksiyonu sonucunda 0.5 ml amino asit enjeksiyonundan % 84, 0.75 ml amino asit karışımından % 68, negatif kontrol grubundan % 74 ve distile su enjekte edilen gruplardan % 72 kuluçka randımanı elde etmişlerdir. Çalışmanın sonunda kuluçkanın 12. gününde 0.5 ml amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanını arttırdığı bildirilmiştir. 9 haftalık çalışma sonunda amino asit enjekte edilen 2 grubun erkeklerinde canlı ağırlık artışları diğer gruplara göre yüksek olurken dişilerde canlı ağırlık artışı bakımından farklılık oluşmadığı saptanmıştır. Çalışmanın sonunda amino asitler gibi farklı besin

maddelerinin in ovo yolla embriyonik dönemde verilmesiyle kuluçka randımanının ve oransal civciv ağırlığının arttırılabileceğini bildirmişlerdir.

Bakayaraj ve ark. (2012) döller etlik tavuk yumurtalarını kuluçkanın 18. gününde lizin ve metiyonin içeren amino asit karışımını 0.5 ml olarak amniyotik sıvıya enjeksiyon gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanını düşürmediği, ancak negatif kontrol grubuna göre % civciv ağırlıklarını arttırdıklarını bildirmişlerdir. Shafey ve ark. (2014) etlik piliç yumurtalarına 0.5 ml amino asit enjeksiyonunun kuluçkanın 15. gününde kuluçka randımanını düşürmediğini, oransal civciv ağırlığını arttırdığını ve 35 günlük yaşta da canlı ağırlık artışını arttırdığını bildirmişlerdir.

Ohta ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada kuluçkadan yeni çıkan civcivlerin kan plazmalarını incelemişler elde ettikleri sonuçlara göre lizin ve metiyonin amino asitlerinin diğer amino asitlere göre plazmadaki değerlerinin düşük olduğunu, kuluçka sırasında çıkartılan embriyoların dokularında yine lizin ve metiyonin amino asitlerinin seviyelerinin düşük olduğu, yine kuluçkanın 7. gününde yumurtalardan aldıkları amniyotik sıvıda lizin ve metiyonin seviyelerinin diğer amino asitlere göre düşük olduğunu belirlemişlerdir. Dolayısıyla kuluçkanın sonlarına doğru amniyotik sıvıdan gelen amino asitler içerisinde lizin ve metiyonin seviyelerinin düşük olduğu deliline istinaden bu tez, lizin ve metiyonin seviyelerinin arttırılarak kuluçka performansının arttırılabileceği öngörüsü ile planlanmıştır.

Al-Shamery ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada döller etlik tavuk yumurtalarına 1.5 mg lizin ve metiyonin enjeksiyonu uygulamışlar çalışma sonunda kuluçka randımanının istatistiki olarak değişmediğini bildirmişlerdir. Kadam ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada döller etlik tavuk yumurtalarına kuluçkanın 14. gününde 0.5 ml distile su içerisinde 10, 20, 30 ve 40 mg treonin enjeksiyonu uygulamışlar, çalışmanın sonunda 30 mg treonin enjeksiyonunun oransal civciv ağırlığını negatif kontrol ve pozitif kontrol gruplarına göre attırdığını, kuluçka randımanının, enjeksiyon öncesi ve sonrası ölüm oranlarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, treonin enjekte edilen grupların 21 ve 28 günler arası etlik civcivlerin canlı ağırlık artışlarını negatif kontrol grubuna göre iyileştirdiğini yem tüketimi ve yemden yararlanmayı etkilemediğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonunda, treoninin in ovo besin maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Gaafar ve ark. (2013) döllü ördek yumurtalarına iki farklı seviyede amino asit karışımı enjeksiyonu uyguladıkları çalışmada; kuluçkanın 12. gününde 0.5 ml ve 0.75 ml amino asit karışımı ve distile su enjeksiyonu sonucunda 0.5 ml amino asit enjeksiyonundan % 84, 0.75 ml amino asit karışımından % 68, negatif kontrol grubundan % 74 ve distile su enjekte edilen gruplardan % 72 kuluçka randımanı elde etmişlerdir. Çalışmanın sonunda kuluçkanın 12. gününde 0.5 ml amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanını arttırdığı bildirilmiştir. 9 haftalık çalışma sonunda amino asit enjekte edilen 2 grubun erkeklerinde canlı ağırlık artışları diğer gruplara göre yüksek olurken dişilerde canlı ağırlık artışı bakımından farklılık oluşmamıştır. Çalışmanın sonunda amino asitler gibi farklı besin maddelerinin in ovo yolla embriyonik dönemde verilmesiyle kuluçka randımanının ve oransal civciv ağırlığının arttırılabileceğini bildirmişlerdir.

Bakayaraj ve ark. (2012) döllü etlik tavuk yumurtalarını kuluçkanın 18. gününde lizin ve metiyonin içeren amino asit karışımını 0.5 ml olarak amniyotik sıvıya enjeksiyon gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanını düşürmediği negatif kontrol grubuna göre % civciv ağırlıklarını arttırdıklarını bildirmişlerdir. Shafey ve ark. (2014) etlik piliç yumurtalarına 0.5 ml amino asit (AA1: lizin, glutamin, glizin ve prolin, distile su içerisinde çözülmüş (% 0.9 NaCl); AA2: arjinin, glutamin, glizin ve prolin, distile su içerisinde çözülmüş (% 0.9 NaCl); AA3: arjinin, lizin, glutamin, glizin ve prolin, distile su içerisinde çözülmüş (% 0.9 NaCl)) enjeksiyonunun kuluçkanın 15. gününde kuluçka randımanını düşürmediğini, oransal civciv ağırlığını arttırdığını, 35 günlük yaşta canlı ağırlık artışını arttırdığını bildirmişlerdir.



### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Yumurta ve Kuluçka Materyali**

Araştırmada yumurta materyali olarak Bey Piliç A.Ş.'den alınan 60 haftalık yaştaki ROSS 308 damızlıklarından elde edilen toplam 300 adet yumurta kullanılmıştır.

Araştırmada Cimuka marka T960İ model kuluçka ve gelişim makinesi kullanılmıştır.

#### **3.2. Araştırmada Kullanılan Sentetik Amino Asit Materyali**

Araştırmada kullanılan sentetik amino asit materyalleri Throuw Nutrition firmasından elde edilmiştir.

Araştırmada kullanılan metiyonin amino asidi toz formda, methionine % 88 Rhodimet AT 88 formunda olup % 88 oranında metiyonin içermektedir. Rhodimet AT 88, metiyoninin kimyasal formülüne hidroksil grubunun (OH) eklenmesi neticesinde hidroksi metil bütanoik asit (HMTBA) elde edilmesi esasına dayanmaktadır.

Araştırmada kullanılan lizin amino asidi toz formda, L-Lysine HCL 99 formunda olup % 78.5 L-Lysine monohidroklorit ve maksimum % 1 oranında nem ihtiva etmektedir.

#### **3.3. Uygun Dozun Bulunması İçin Yapılan Ön Denemeler**

Araştırmada 4 ayrı ön çalışma yapılmıştır. Yapılan ilk 3 çalışmada uygulanan enjeksiyonlar letal etkiye neden olduğundan uygun dozun bulunması amacıyla aşağıda özetleri verilen ön çalışmalar yapılmıştır:

**Çalışma 1:** Çalışmada 1 ml çözelti içerisinde 25 mg amino asit olacak şekilde 100 ml'lik çözeltiler hazırlanmıştır. 360 döllü yumurtanın amniyotik sıvılarına 1 ml olacak şekilde enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda; sadece negatif kontrol grubunda çıkım olduğu görülmüş ve enjeksiyonda uygulanan dozun letal etkiye neden olmasından dolayı amino asit dozunun düşürülmesine karar verilmiştir.

**Çalışma 2:** Çalışmada 1 ml çözelti içerisinde 10 mg amino asit olacak şekilde çözelti hazırlanmış ve 240 adet döllü yumurtanın amniyotik sıvılarına enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda sadece negatif kontrol grubunda çıkım olduğu görülmüş ve dozun yine düşürülmesine ve aynı zamanda amniyotik sıvı ile birlikte hava boşluğuna verilmesine karar verilmiştir.

**Çalışma 3:** Çalışmada hava boşluğuna enjeksiyon yapılabilmesi için enjeksiyon sırasında verilen madde miktarının da düşürülmesi gerektiğinden dolayı enjeksiyonlar 5 mg/0.5 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışma 2 de belirlenen dozun yarısı enjeksiyon sırasında kullanılmıştır. 80 adet döllü yumurtanın hem amniyotik sıvılarına hem hava boşluklarına enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda amniyotik sıvıya enjeksiyonun yine letal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Fakat hava boşluğuna yapılan enjeksiyonda muamele gruplarında % 40 civarında çıkım olduğu görülmüş ve dozun tekrar düşürülmesine karar verilmiştir.

**Çalışma 4:** Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak yumurtaların hava boşluklarına 2 mg/0.2 ml amino asit çözeltisi enjeksiyonları gerçekleştirilmiş ve enjeksiyonun kuluçka randımanının üzerine olumsuz etkisi giderilmiştir.

### **3.4. Deneme Deseni ve Enjeksiyon Solüsyonlarının Hazırlanması**

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 muamele grubu, her muamele grubunun 3 tekerrürü ve her tekerrürde 8 yumurta olacak şekilde düzenlenmiştir.

Muamele grupları:

- 1- Negatif kontrol (Enjeksiyon yapılmayan grup)
- 2- Pozitif kontrol (Saf su enjeksiyonu)
- 3- Lizin grubu (10.5 g/l, 2 mg/0.2 ml her yumurta)
- 4- Metiyonin grubu (10.5 g/l, 2 mg/0.2 ml her yumurta)
- 5- Lizin ve metiyonin grubu (5.25+5.25 g/l, 1+1 mg/0.2 ml her yumurta)

### **3.5. İn Ovo Enjeksiyon**

Araştırmada 60 haftalık ROSS 308 damızlıklardan elde edilen aynı gün yumurtlanmış 300 adet ROSS 308 yumurtaları kuluçka makinesine konulmadan önce

25 °C de bir gün süre ile hava boşluklarının oluşması için bekletilmişlerdir. Daha sonra yumurtalar tartılarak bireysel ağırlıkları alınmıştır. Ağırlıkları belirlenen 300 kuluçka makinesine yerleştirilmiştir. Kuluçka makinesinin sıcaklığı 37.8 °C nemi ise % 56 olacak şekilde ayarlanmış ve kuluçka başlatılmıştır. Kuluçkanın 12. gününde döl kontrolü yapılmış ve döl kontrolü sonunda döllü olduğu belirlenen 238 yumurta 5 ayrı muamele grubuna (NK=48, PK=48, M=48, L=46 ve LM=48 yumurta) eşit ağırlık ortalamalarına göre dağıtılmıştır.

Kuluçkanın 16. gününde kuluçka odasının sıcaklığı 32 °C ye getirilmiş ve kuluçka odası ve kuluçkahanede kullanılan aletler % 70'lik etil alkolle dezenfekte edilerek kuluçka enjeksiyona hazır hale getirilmiştir. Kuluçka makinesinden yumurtalar gruplar halinde çıkarılarak;

- 1- % 70'lik etil alkolle yumurtaların küt kısmı dezenfekte edilmiştir.
- 2- Dezenfekte edildikten sonra yumurtaların küt kısmı delici bir iğne ile delinmiştir.
- 3- Enjeksiyonda kullanılan solüsyonlar 2 ml'lik 21 gauge kalınlığında enjektöre alınmış ve 0.2 ml besin madde enjeksiyonu yumurtaların hava boşluklarına gerçekleştirilmiştir.
- 4- Enjeksiyon tamamlandıktan sonra yumurtada açılan delik yapışkan bant ile kapatılmıştır.

Yumurtalar bantla kapatıldıktan sonra kuluçka makinesine konulmuştur. Deneme esnasında çekilen resimler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir. Kuluçkanın tamamlanmasını takiben kuluçka randımanı ve oransal civciv ağırlıklarının belirlenmesi için her muamele grubundaki 48 yumurta 16 şarlı olacak şekilde 3 tekerrüre ayrılarak çıkım tablalarına yerleştirilmiştir. Kuluçka sonunda çıkımı tamamlanan civcivlerin sayısı ve ağırlığı belirlenmiştir. Kuluçkaya konulan ve çıkımı tamamlanan yumurtaların ağırlıkları toplamı ile çıkımı tamamlanan civcivlerin ağırlıkları toplamı oranlanarak oransal (%) civciv ağırlıkları ve kuluçka randımanı belirlenmiştir.



**Resim 1.** Yumurtaların %70'lik etil alkolle dezenfekte edilmesi



**Resim 2.** Yumurtaların dezenfekte edilen küt kısımdan iğne ile delinmesi



**Resim 3.** Yumurtalara in ovo enjeksiyon yapılması



**Resim 4.** İn ovo enjeksiyon yapılan yumurtaların bant yardımıyla kapatılması

### 3.6. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan yemler Kırşehir’de faaliyet gösteren ticari bir firmadan temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan yemlerin besin madde içerikleri çizelge 1’de verilmiştir.

**Çizelge 1. Yemlerin Kimyasal Kompozisyonu (%).**

<b>Yem Hammaddeleri</b>	
Mısır	44.00
Soya küspesi (44)	41.15
Et kemik unu	4.00
Soya yağı	6.50
Dicalciumphosphate	2.50
L-lysine HCl	0.70
DL-methionine	0.35
Salt	0.30
Vitamin premix*	0.25
Mineral premix#	0.25
<b><u>Analiz Sonuçları</u></b>	
ME [kcal/kg]	3080
Ham protein	22.39
Ham selüloz	2.80
Ham yağ	8.50
Kalsiyum	7.60
Yararlanılabilir fosfat	3.80

\* Vitamin A, 12.000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2.400 IU; vitamin E, 30 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 3 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 7 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 15 µg; niasin, 25 mg;

# demir, 80 mg; folik asit, 1 mg; pantotenik asit, 10 mg; biotin, 45 mg; kolin, 125000 mg; bakır, 5 mg; manganez, 80 mg; çinko, 60 mg; selenyum, 150 µg.

### 3.7. Denemenin Yürütülmesi

Araştırma, Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Kümes Hayvanları Ünitesinin tam çevre kontrollü şartlarda yürütülmüştür. Enjeksiyonlar yapıldıktan sonra 2 gün geliştirme bölümünde tutulan yumurtalar çıkım bölümüne alınmıştır. Kuluçkadan çıkışlar 32 saat sürmüştür. Çıkışlar

başladığında ilk 6 saatte ve son 6 saatte çıkan civcivler aç kalma süresinin çalışma sonuçlarını etkilememesi için NK grubundan 10, PK grubundan 14, M grubundan 13, L grubundan 17 ve LM grubundan 15 hayvan deneme dışı bırakılarak her muamele grubundan 24 hayvan 4 katlı civciv yetiştirme kafeslerine alınmıştır. Her kafese (tekerrür) 8 er adet karışık cinsiyette 5 muamele grubu ve 3 er tekerrürde toplam 120 adet civciv yerleştirilmiştir. Civcivlerin yerleştirildikleri kafes boyutları 1m genişlik, 50 cm derinlik ve 40 cm yüksekliğe sahiptir. Hayvanlara içme suyu her kafeste bulunan 2 adet niplele sağlanmıştır. Yemler ise kafeslerin ön kısmına yerleştirilen yemliklerle sağlanmıştır. Araştırma ünitesi deneme başlamadan 3 gün önce ısıtılmaya başlanmış civcivler kafeslere konulduğunda oda sıcaklığı ilk hafta 32 °C, 2. hafta 30 °C, 3. hafta 28 °C ye ayarlanmıştır. Deneme sırasında civcivler ilk hafta kafes zeminine gazete serilerek, ikinci ve üçüncü hafta ise kafesin tel zemini üzerine yerleştirilmişlerdir. Tel zemin üzerine yerleştirilen civcivlerin dışkıları her katta bulunan tablalara döküldüğünden, iki günde bir tablalar temizlenerek kümes içerisinde koku oluşumu engellenerek kümes temizliği sağlanmıştır. Deneme alanının havalandırılması vantilatörle sağlanmıştır. Yem ve içme suyu hayvanlara ad-libitum olarak verilmiştir. Hayvanların canlı ağırlık artışı ve yem tüketimleri haftalık olarak hesaplanmıştır.

### **3.8. Kesim ve Örnek Alma**

Denemenin 21. gününde bütün grupların yemlikleri gece saat 24:00'de kaldırılmış, ertesi gün sabah saat 8:00'de bütün hayvanlar bireysel olarak tartılarak grupların canlı ağırlıkları tespit edilmiştir. Tartımlar tamamlandıktan sonra her tekerrürden tesadüfi olarak bir dişi ve bir erkek alınmış ağırlıkları belirlenmiş ve ayaklarına hangi muamele grubunun hangi tekerrürüne ait olduğunu gösteren bantlar yapıştırılmış ve hayvanlar boğazlarından kesilmiştir. Kesilen hayvanların karın bölgeleri neşter yardımıyla kesilerek hayvanların içi açılmış, içi açılan hayvanların yemek borularından kloakın son bölümüne kadar olan kısmı çıkarılmıştır. Çıkarılan örnekten kalp, karaciğer, taşlık, proventrikulus, pankreas ve bursa fabricius çıkartılarak tartılmış ve kalan kısmın uzunluğu ve ağırlığı alınmıştır. Sindirim sisteminin jejunum ve ileum arasındaki Meckel's diverticulum (göbek bağı) bölgesinden histolojik analizler için 1 cm boyunda doku örnekleri alınmış dokular %

10'luk formaldehite konularak 1 gün süreyle bekletilmişlerdir. Mikrobiyolojik analizler için ise her hayvanın sekumlarından sekum içerikleri daha önceden sterilizasyonları yapılan doku saklama tüplerine alınmışlardır ve ivedilikle -20 °C ye konularak analiz için saklanmışlardır.

### 3.9. Sekum Mikroorganizmalarının Tespiti

Çalışmada sekum içeriklerinde toplam canlı bakteri (TCB), *E.coli*, *Coliform* ve *Enterobacteriaceae* yoğunluklarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Analizlerin yapılmasında 3M petrifilm plakalar kullanılmıştır. Petrifilm plakalar hazır mor kırmızı safra (VRB) besinleri, soğuk suda eriyen jel bileşenleri ve kolonilerin sayılmasını sağlayan tetrazolium göstergesi içeren hazır besi yerleridir. Bir g'lık örnekler distile su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile vorteksle karıştırılıp, mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak 10 dakikayı aşmayan zaman zarfında ekim işlemi yapılmıştır. Toplam canlı bakteri sayımı için 3M toplam canlı sayım plakaları kullanılmıştır. *E.coli* sayımı için 3M *E.coli* sayım plakaları kullanılmıştır. *Coliform* bakterilerin sayımı için 3M *Coliform* sayım plakaları kullanılmıştır. Enterobakterilerin sayımı için 3M Enterobakteri sayım plakaları kullanılmıştır. Ekim sonunda elde edilen sonuçlardan örnekler resim 5'de verilmiştir.

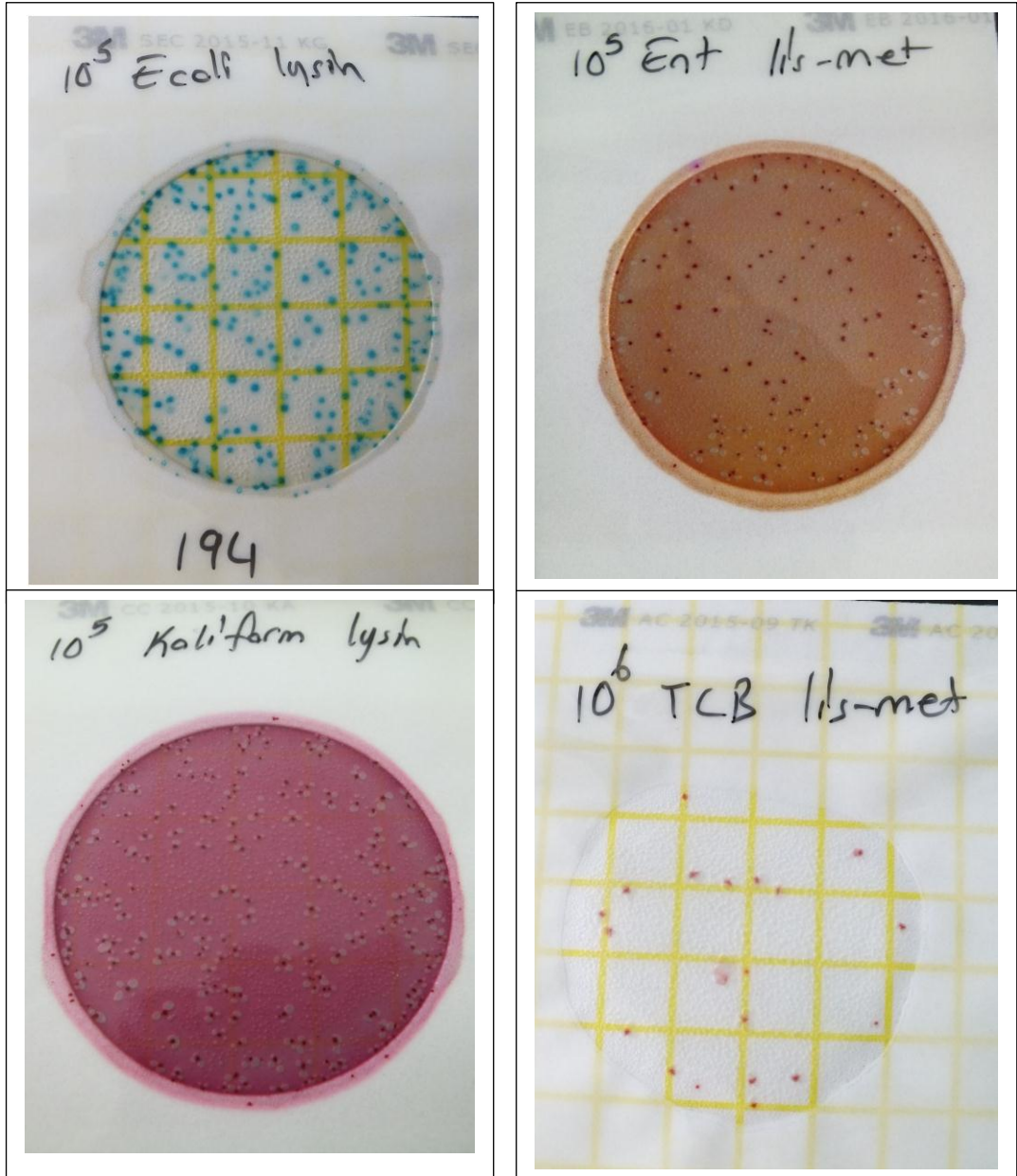
**TCB:** Ekim Ortamı: 3M Toplam Canlı Sayım Plakaları, İnkübasyon sıcaklığı: 35 °C, İnkübasyon süresi: 48 saat (Alvarado ve ark., 2007).

***E.coli*:** Ekim Ortamı: 3M E Koli Sayım Plakaları, İnkübasyon sıcaklığı: 32 °C, İnkübasyon süresi: 24 saat (Diarra ve ark., 2007).

***Enterobacteriaceae*:** Ekim Ortamı: 3M Enterobakteri Sayım Plakaları, İnkübasyon sıcaklığı: 32 °C, İnkübasyon süresi: 24 saat (Diarra ve ark., 2007).

***Coliform*:** Ekim Ortamı: 3M Coliform Sayım Plakaları, İnkübasyon sıcaklığı: 35 °C, İnkübasyon süresi: 24 saat (Diarra ve ark., 2007).

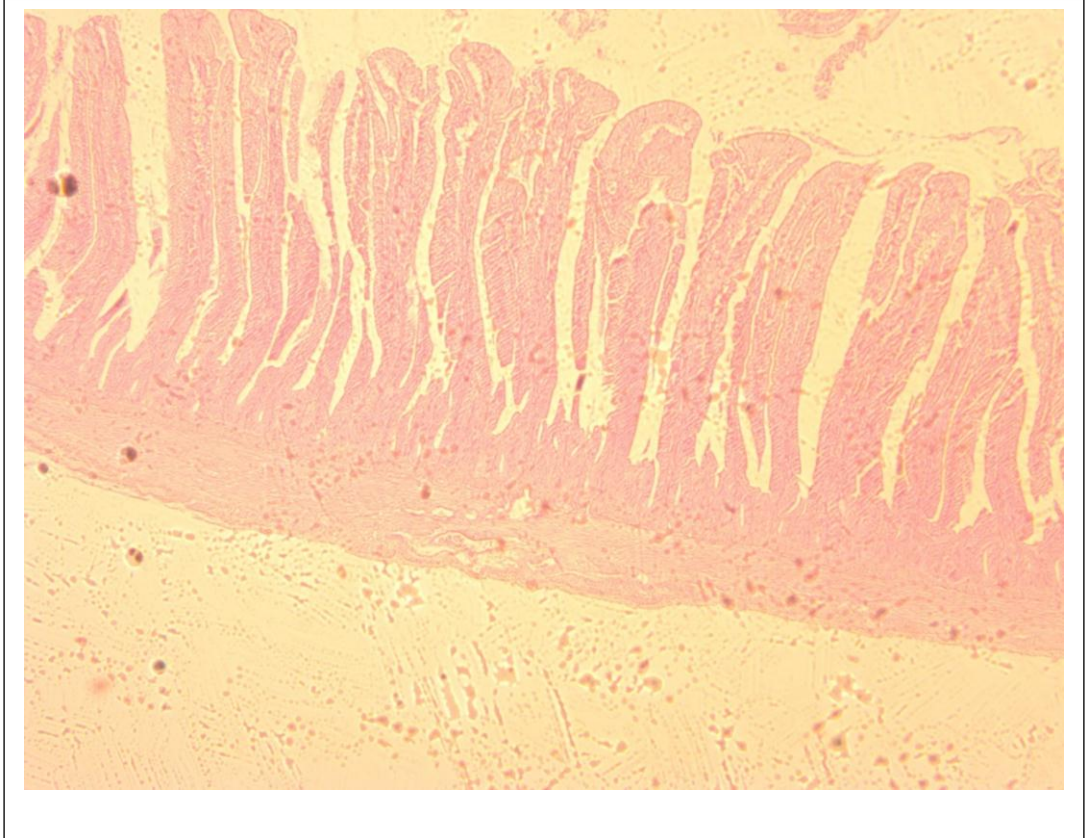




**Resim 5.** TCB, *E.coli*, *Enterobacteriaceae* ve *Coliform* örnek görüntüleri.

### 3.10. İleum Örneklerinin Alınması ve Histomorfolojisi

Denemenin 21. gününde muamele başına 4 tekerrür olacak şekilde her tekerrürden 2 hayvan toplam 20 hayvan kesilerek bağırsak kısımları ayrılmış, boş halde ağırlıkları ve uzunlukları ölçülmüştür. Ardından ileumdan alınan doku örnekleri yıkandıktan sonra % 10'luk tamponlu formalin ile tespit edilmiş daha sonra Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na götürülmüştür. Burada hazırlanan parafin bloklar, 4 mikron kalınlığında kesilerek Hematoksilen X Eosin boyası ile boyanmıştır (Xu ve ark. 2003). Bu işlemlerin ardından dijital kameralı mikroskop (ZEISS Primo Star, Almanya) ile fotoğrafları çekilmiştir. Resim 6'de 21 günlük etlik civcivlerden alınan bağırsak örneği verilmiştir. Bir görüntü işleme ve analiz programında (ZEN 2012 SP2) ise kript derinliği, *Lamina muscularis mucosae* kalınlığı, villus yüksekliği ve genişliği ölçülmüştür.



**Resim 6.** İleumdan örnek kesit görüntüsü

### **3.11.İstatistik Analizler**

Araştırmada elde edilen veriler tesadüf parselleri deneme desenine göre tek yönlü varyans analiziyle (ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 15.0 for Windows Evaluation version istatistik paket programında yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Büyüme Performansı Üzerine Etkileri

Hayvanların deneme başı canlı ağırlıkları (DBCA) ortalama  $47.5 \pm 0.125$  g olarak ayarlanmıştır. Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun büyüme performansı üzerine etkileri çizelge 2’de verilmiştir.

**Çizelge 2.** Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun haftalık canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yem dönüşüm oranları üzerine etkileri.

	NK	PK	M	L	LM	OSH
Yem Tüketimi (g/civciv)						
0-7 gün	127.67	118.92	125.59	118.50	118.73	1.445
7-14 gün	340.33	327.80	321.19	325.37	320.57	3.522
14-21 gün	568.21	524.29	609.52	596.94	541.17	13.98
0-21 gün	1036.21	971.00	1056.30	1040.81	980.47	14.93
Canlı Ağırlık Artışı (g/civciv)						
0-7 gün	98.50a	88.83ab	94.63ab	88.26b	89.82ab	1.499
7-14gün	250.17	246.71	247.08	249.40	249.69	1.203
14-21gün	354.79	321.19	349.53	353.80	324.74	8.278
0-21gün	703.46	654.24	701.24	691.46	664.25	9.066
Yem Dönüşüm Oranı (YT/CAA)						
0-7	1.30	1.34	1.33	1.3	1.32	0.016
7-14	1.36	1.33	1.30	1.30	1.28	0.012
14-21	1.60	1.64	1.75	1.70	1.67	0.022
0-21	1.47	1.48	1.51	1.51	1.48	0.012

a,b: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalaması arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ( $P < 0,05$ ).

Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonu sonucunda canlı ağırlık artışları ilk hafta negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin-metiyonin gruplarından sırasıyla 98.50, 88.83, 94.63, 88.26, 89.82 gram olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol grubunun canlı ağırlık artışı lizin enjekte edilen

gruptan yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ). İkinci hafta 7 ve 14 günler arası canlı ağırlık artışları ise yine sırasıyla 250.17, 246.71, 247.08, 249.40, 249.69 gram olarak bulunmuştur. Üçüncü hafta 14 ve 21 günler arası canlı ağırlık artışları ise yine sırasıyla 568.21, 524.29, 609.52, 596.94, 541.17 gram olarak bulunmuştur. 0 ve 21 günler arası canlı ağırlık artışları ise yine sırasıyla 703.46, 654.24, 701.24, 691.46, 664.25 gram olarak bulunmuştur. Canlı ağırlık artışı bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamıştır ( $P>0.05$ ).

Yem tüketimleri ilk hafta negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin-metiyonin gruplarından sırasıyla 127.67, 118.92, 125.59, 118.50, 118.73 gram olarak belirlenmiştir. İkinci hafta 7 ve 14 günler arası yem tüketimleri ise yine sırasıyla 340.33, 327.80, 321.19, 325.37, 320.57 gram olarak bulunmuştur. Üçüncü hafta 14 ve 21 günler arası yem tüketimleri ise yine sırasıyla 568.21, 524.29, 609.52, 596.94, 541.17 gram olarak bulunmuştur. 0 ve 21 günler arası yem tüketimleri ise yine sırasıyla 1036.21, 971.00, 1056.30, 1040.81, 980.47 gram olarak bulunmuştur. Yem tüketimi bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamıştır ( $P>0.05$ ).

Yem dönüşüm oranları ilk hafta negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin-metiyonin gruplarından sırasıyla 1.30, 1.34, 1.33, 1.34, 1.32 olarak belirlenmiştir. İkinci hafta 7 ve 14 günler arası yemden yararlanma oranları ise yine sırasıyla 1.36, 1.33, 1.30, 1.30, 1.28 olarak bulunmuştur. Üçüncü hafta 14 ve 21 günler arası yemden yararlanma oranları ise yine sırasıyla 1.60, 1.64, 1.75, 1.70, 1.67 olarak bulunmuştur. 0 ve 21 günler arası yem dönüşüm oranları ise yine sırasıyla 1.47, 1.48, 1.51, 1.51, 1.48 olarak bulunmuştur. Yem tüketimi bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamıştır ( $P>0.05$ ). Yem dönüşüm oranları bakımında gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamıştır.

#### **4.2. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Kuluçka Randımanı Üzerine Etkileri**

Araştırma sonunda elde edilen % kuluçka randımanı ve oransal civciv ağırlık değerleri çizelge 3'te verilmiştir. Döllü etlik piliç yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonu sonucunda oransal civciv ağırlıkları negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin-metiyonin gruplarından sırasıyla % 68.89, 69.53, 69.85, 70.20, 71.23 olarak belirlenmiştir. Kuluçkanın 12. gününde dölsüz

yumurtaların alınmasıyla kalan yumurtalardan çıkım güçleri negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin metiyonin gruplarından sırasıyla %70.83, 79.17, 77.08, 89.58, 81.25 olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 3.** Döllü etlik piliç yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun kuluçka randımanı ve % civciv ağırlığı üzerine etkileri.

	NK	PK	M	L	LM	SEM
Kuluçka randımanı %	70.83a	79.17ab	77.08a	89.13b	81.25ab	2.07
% civciv ağırlığı	68.89	69.53	69.85	70.20	71.23	0.002

a.b: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalaması arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ( $P<0,05$ ).

Döllü etlik piliç yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonu sonucunda gruplar arasında oransal civciv ağırlıkları istatistikî olarak etkilenmezken ( $P>0,05$ ) lizin enjeksiyonu negatif kontrol grubuna ve metiyonin enjeksiyonu yapılan gruba göre % civciv ağırlığı ve kuluçka randımanını istatistikî olarak arttırmıştır ( $P<0,05$ ).

#### **4.3. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun İç Organ Ağırlıkları Üzerine Etkileri**

Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun iç organ ağırlıkları üzerine etkileri çizelge 4'te verilmiştir. İç organ ağırlık değerleri 100 g canlı ağırlığa düşen gram ağırlıkları cinsinden verilmiştir.

**Çizelge 4.** Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun iç organ ağırlıkları üzerine etkileri (g, cm/100g CA).

	NK	PK	M	L	LM	OSH
Kalp	0.59	0.64	0.60	0.63	0.61	0.013
Karaciğer	3.02a	3.01a	3.48b	3.15ab	3.10ab	0.063
Taşlık	2.21	2.11	2.07	2.2	2.13	0.044
Pankreas	0.41ab	0.37a	0.44b	0.44b	0.39ab	0.011
Sindirim sistemi uzunluğu	20.69a	22.23ab	22.51ab	24.72b	22.49ab	0.410
Sindirim sistemi ağırlığı	6.40	6.38	6.41	6.07	5.95	0.150
Bursa fabricius	0.23	0.24	0.27	0.25	0.25	0.009
Proventrikulus	0.59ab	0.54a	0.67ab	0.70b	0.61ab	0.019

ab: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalaması arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ( $P<0.05$ ).

Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonu sonucunda 100 gram canlı ağırlığa düşen kalp ağırlıkları negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin metiyonin gruplarından sırasıyla 0.59, 0.64, 0.60, 0.63, 0.61 gram olarak belirlenmiştir. Karaciğer ağırlıkları da sırasıyla 3.02, 3.01, 3.48, 3.15, 3.10 gram olarak, taşlık ağırlıkları da sırasıyla 2.21, 2.11, 2.07, 2.12, 2.13 gram, pankreas ağırlıkları da sırasıyla 0.41, 0.37, 0.44, 0.44, 0.39 gram, sindirim sistemi ağırlığı sırasıyla 6.40, 6.38, 6.41, 6.07, 5.95 gram, sindirim sistemi uzunluğu da sırasıyla 20.69, 22.23, 22.51, 24.72, 22.49 cm/100 g canlı ağırlık olarak, bursa fabricius ağırlıkları da sırasıyla 0.23, 0.24, 0.27, 0.25, 0.25 gram, proventriculus ağırlıkları da sırasıyla 0,59, 0.54, 0.67, 0.70, 0.61 gram olarak belirlenmiştir.

Kalp, taşlık, sindirim sistemi ağırlığı ve bursa fabricius ağırlıkları bakımında gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmazken ( $P>0.05$ ) metiyonin enjeksiyonu karaciğer ağırlığını negatif kontrol ve pozitif kontrol gruplarına göre istatistikî olarak arttırmıştır ( $P<0.05$ ). Lizin enjeksiyonu sindirim sistemi uzunluğunu negatif kontrol grubuna göre istatistikî olarak arttırmıştır ( $P<0.05$ ). Lizin enjeksiyonu proventrikulus ağırlığını pozitif kontrol grubuna göre istatistikî olarak arttırmıştır ( $P<0.05$ ). Lizin

enjekte edilen grup ve metiyonin enjekte edilen grupta pankreas ağırlıkları pozitif kontrol grubunda yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

#### 4.4. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin Ve Metiyonin Enjeksiyonunun İleum Histomorfolojik Özellikleri Üzerine Etkileri

Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun ileum histomorfolojik özellikleri üzerine etkileri çizelge 5’te verilmiştir.

**Çizelge 5.** Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin enjeksiyonunun ileum histomorfolojik özellikleri üzerine etkileri.

	NK	PK	M	L	LM	OSH
Villi Boyu ( $\mu$ )	1140.71	1123.30	1128.45	1151.12	1201.05	11.07
Villi Kalınlığı ( $\mu$ )	234.57	223.22	248.26	230.36	240.45	9.58
Lamina Muscularis Mucosa ( $\mu$ )	176.10b	185.53ab	187.69ab	187.42ab	179.08a	4.48
Kript Derinliği ( $\mu$ )	152.41	165.28	174.58	154.71	186.79	9.01

ab: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalaması arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ( $P<0,05$ ).

Kuluçkanın 16. gününde yapılan enjeksiyon sonucunda etlik civcivlerin 21 günlük büyüme döneminden sonra yapılan kesimlerden alınan ileum örneklerinde yapılan histomorfolojik analizler neticesinde villi boyları negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin metiyonin gruplarından sırasıyla 1140.71, 1123.30, 1128.45, 1151.12, 1201.05  $\mu$ , villi kalınlığı sırasıyla 234.57, 223.22, 248.26, 230.36, 240.45  $\mu$ , lamina muscularis mukoza kalınlığı sırasıyla 176.10, 185.53, 187.69, 187.429, 179.09  $\mu$ , kript derinliği sırasıyla 152.41, 165.28, 174.58, 154.71, 186.79  $\mu$  olarak bulunmuştur. Yapılan istatistik analizler sonunda villi boyu, villi kalınlığı ve kript derinliği bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmazken lamina muscularis mucosa bakımından pozitif kontrol, metiyonin ve lizin enjeksiyonu yapılan grup negatif kontrol grubuna göre daha yüksek değere sahip olmuştur.



#### 4.5. Döllü Etlik Tavuk Yumurtalarına İn Ovo Lizin ve Metiyonin Enjeksiyonunun Sekum Toplam Canlı Bakteri, *E.coli*, *Enterobacteriaceae* ve *Coliform* Bakterileri Üzerine Etkileri

Araştırma sonunda hayvanların sekumlarından alınan örnekleri üzerinde yapılan mikrobiyolojik analiz değerler çizelge 6'da verilmiştir.

**Çizelge 6.** Döllü etlik tavuk yumurtalarına in ovo lizin ve metiyonin sekal mikroorganizma sayıları üzerine etkileri (kob/g).

	NK	PK	M	L	LM	OSH
Toplam Canlı Bakteri ( $10^6$ )	1.32	1.27	1.29	1.35	1.30	0.017
E Coli ( $10^5$ )	2.16	2.19	2.18	2.20	2.15	0.007
<i>Enterobakter</i> ( $10^5$ )	2.10	2.11	2.06	2.09	2.09	0.008
<i>Coliform</i> ( $10^5$ )	2.11	2.09	2.10	2.13	2.12	0.010

Kuluçkanın 16. gününde yapılan enjeksiyon sonucunda etlik civcivlerin 21 günlük büyüme döneminden sonra yapılan kesimlerden alınan sekum içeriklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler neticesinde toplam canlı bakteri negatif kontrol, pozitif kontrol, metiyonin, lizin ve lizin-metiyonin gruplarından sırasıyla 1.32, 1.27, 1.29, 1.35, 1.30 kob/g, *E.coli* sırasıyla 2.16, 2.19, 2.18, 2.20, 2.15 kob/g, *Enterobacteriaceae* sırasıyla 2.10, 2.11, 2.06, 2.09, 2.09 kob/g, *coliform* bakterileri sırasıyla 2.11, 2.09, 2.10, 2.13, 2.12 kob/g olarak bulunmuştur. Yapılan istatistik analizleri sonucunda toplam canlı bakteri, *E.coli*, *enterobacteriaceae* ve *coliform* bakterileri bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamıştır.

## 5. TARTIŞMA

Bu yüksek lisans tez çalışmasının sonunda elde edilen sonuçlara göre lizin, metiyonin ve bu aminoasitlerinin karışımının enjeksiyonunun etlik piliçlerin performansları üzerine herhangi bir olumsuz etkilerinin olmadığı ve özellikle lizin enjeksiyonunun kuluçka randımanının istatistikî olarak iyileştirdiğini göstermiştir. İn ovo besleme çalışmalarında etlik piliçlerin büyüme performansları bakımından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Keralapurath ve ark. (2010), Bhanja ve ark. (2004), Al-Daraji ve ark. (2012) in ovo amino asit enjeksiyonunun performansı etkilemediğini bildirmelerine karşın, Foye ve ark. (2006), Kadam ve ark. (2008), Gaafar ve ark. (2013), Shafey ve ark. (2014) farklı amino asit enjeksiyonu uygulamalarının büyüme performanslarını arttırdığını bildirmişlerdir. İn ovo besleme çalışmalarında etlik piliçlerden performans bakımından farklı sonuçların elde edilmesi, enjeksiyon sırasında kullanılan besin madde miktarına, enjeksiyon zamanına ve enjeksiyon derinliğine göre değişiklik gösterebilir.

Bu yüksek lisans tezinin çalışmasında enjeksiyon kuluçkanın 16. gününde her yumurtaya 0.2 ml olacak şekilde hava boşluğuna yapılmıştır. Çalışma 2014 yılı yaz döneminde Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümünün tam çevre kontrollü kümes hayvanları ünitesinde yapılmıştır. Çalışma sonunda hayvanların performansları üzerinde herhangi bir istatistikî farklılık oluşmamasının nedeni çalışma sırasında herhangi bir stres faktörünün olmamasından kaynaklı olabilir. Zira Kornasio ve ark.(2011) yaptıkları çalışmada hayvanları enjeksiyondan sonra aç 72 saate kadar aç bırakarak performansları incelediklerinde enjeksiyon yapılmayan ve aç kalan hayvanların performanslarının düştüğünü fakat enjeksiyon uygulanan ve aç kalan hayvanların performanslarının negatif kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve performanstaki bu artışın enjeksiyon sırasında uygulanan besin maddelerinin hayvanların çıkım aşamasında gerekli ihtiyacı karşılayarak kuluçka aşamasında iç organların büyümelerinin sağlanmasıyla aç kalmaya karşı dayanıklılıkların artışı işe açıklanmıştır.

Lizin ve metiyonin enjeksiyonu sonrasında kuluçkadan çıkan civcivlerin başlangıç yumurta ağırlığına oranı bakımından gruplar arasında istatistikî farklılık oluşmamasına rağmen enjeksiyon yapılan gruplarda oransal civciv ağırlığı negatif kontrol grubuna göre bir miktar artış olmuştur ama bu artış istatistikî olarak önemli

bulunmamıştır. Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alındığında özellikle 2013 yılında Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Kümes hayvanları Ünitesinde yürütülen çalışmada döllu etlik tavuk yumurtalarına kuluçkanın 16. gününde yumurtaların amniyotik sıvılarına 1 ml. % 5'lik metiyonin enjeksiyonun oransal civciv ağırlığını % 70'ten % 72.7'ye çıkarttığı fakat kuluçka randımanını % 90'dan % 85'e düşürdüğü belirlenmiştir (Coşkun ve ark., 2014).

Kuluçkanın 16. gününde 0.2 ml olacak şekilde yapılan enjeksiyon sonucunda kuluçka randımanı lizin enjeksiyonu yapılan grupta negatif kontrol grubuna ve metiyonin grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar enjeksiyon sırasında kullanılan besin maddesinin türü, miktarı ve enjeksiyon yerinin kuluçka randımanı ve civciv ağırlığı üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Zira Al-Shamery ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada kuluçkalık yumurtalara 0.1 ml olacak şekilde enjeksiyon yapmışlar enjeksiyon sonucunda civciv ağırlığı etkilenmezken lizin ve metiyonin karışımı enjeksiyonu yapılan grupta kuluçka randımanı istatistikî farklılık olmamasına rağmen yükseliş eğilimi gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırma sonunda LM enjeksiyonu yapılan grupta da kuluçka randımanı istatistikî farklılık olmamasına rağmen NK grubuna göre artış eğilim göstermesi bakımından Al-Shamery ve ark. (2015) yaptıkları çalışmanın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Araştırmanın sonunda elde edilen kuluçka randımanı sonuçlarına göre kuluçkanın 16. gününde döllu yumurtaların hem amniyotik sıvılarına hem de hava boşluklarına yüksek düzeyde amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanı üzerine olumsuz etkiye sahip olduğunu, fakat döllu yumurtaların hava boşluklarına düşük konsantrasyonda ve düşük seviyelerde amino asit enjeksiyonunun kuluçka randımanı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Araştırmada yapılan 3 ön denemede de yumurtaların hem amniyotik sıvılarına hem de hava boşluklarına 1 ml ve 0.5 ml amino asit enjeksiyonunda kuluçka randımanının düşmesinin nedeninin döllu yumurta içindeki embriyo ile amniyotik sıvının yumurta içindeki basınç değişiminden kaynaklandığı (Moghaddam ve ark., 2013,2014) bildirilmiştir. Zira Ohta ve ark. (1999 ve 2001) ve Ohta ve Kidd (2001) döllu yumurtaların amniyotik sıvılarına 0.5 ml amino asit karışımı enjeksiyonunun oransal civciv ağırlığının istatistikî olarak artmasına rağmen kuluçka randımanının düştüğü bildirmişlerdir.

Araştırmanın 21. gününde yapılan kesimde hayvanların sekumlarından alınan örneklerde toplam canlı bakteri, *E.coli*, *Enterobacteriaceae* ve *coliform* analizleri yapılmış gruplar arasında herhangi bir farklılık oluşmamıştır. Bu sonuçlar enjeksiyon sırasında yapılan uygulamanın embriyo üzerinde herhangi bir mikroorganizma bulaşma olmadığını göstermektedir. Coşkun (2012) yaptığı çalışmasında kuluçkalık yumurtaları kuluçkanın 18 gününde probiyotik enjeksiyonunun civcivlerin 21 günlük büyüme döneminden sonra bağırsaklarındaki mikroflorayı etkilediğini laktik asit bakterilerinin genel flora içerisinde arttığını bu artışla birlikte ileumdan villi boyu ve villi kalınlığının artışı sağladığını bildirmiştir. Yapılan çalışma sonunda ileumdan alınan örneklerde yapılan histomorfolojik analizler sonucunda farklılığın çıkmaması enjeksiyon sırasında uygulanan besin maddesinin sterilizasyonuna ya da besin maddesinin uygulama amacına göre mikroorganizma kültürü olup olmamasına göre değişiklik gösterdiğinin belirtisi olabilir.

Sonuç olarak; döllu yumurtalara 2 mg/0.2 ml in ovo lizin enjeksiyonunun kuluçka randımanını attırması olup in ovo besin maddesi olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Yine de bu sonuçların farklı günlerde yapılacak lizin enjeksiyonları veya farklı dozlarda farklı aminoasit kombinasyonlarının yapıldığı çalışmaların sonuçlarıyla doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- 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: 139-145.
- Al-Shamery N.J.; Baqur M.; Al-Shuhaib S. *Effect of in ovo injection of various nutrients on the hatchability, mortality ratio and weight of the broiler chickens, IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, **2015**, 1(2): 30-33.
- Alvarado C.Z.; Richards M.P.; O’Keefe S.F.; Wang H. *The effect of blood removal on oxidation and shelf life of broiler breast meat, Poultry Science*, **2007**, 86: 156–16.
- Bakayaraj S., Bhanja S. K., Majumdara S., Dashb B. *Modulation of post-hatch growth and immunity through in ovo supplemented nutrients in broiler chickens, Journal Science Food Agriculture*, **2012**, 12; 92: 313–320.
- Bar-Shira E., Sklan D., Friedman A. *Impaired immune responses in hatchling hindgut following delayed access to feed, Veterinary Immunology and Immunopathology*, **2005**, 105: 33-45.
- Bhanja S.K.; Anjali D.C.; Panda A.K.; Shyam S.G. *Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens, Asian - Australasian Journal of Animal Sciences*, **2009**, 22: 1174-1179.
- Bhanja S.K.; Mandal A.B.; Goswami T.K. *Effect of in ovo injection of amino acids on growth, immune response, development of digestive organs and carcass yields of broilers, Indian Journal of Poultry Science*, **2004**, 39: 212-218.
- Bigot K.; Mignon-Grasteau S.; Picard M.; Tesseraud S. *Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers, Poultry Science*, **2003**, 82: 781–788.
- Christensen V.L.; Donaldson W.E.; Nestor K.E.; Mc Murtry J.P. *Effects of genetics and maternal dietary iodide supplementation on glycogen content of organs with in embryonic turkeys, Poultry Science*, **1999**, 78: 890-898.

- Christensen V.L.; Grimes J.L.; Donaldson W.E.; Lerner S. *Paternal influences on turkey embryonic growth in the absence of changes in egg weight and egg shell conductance*, *Poultry Science*, **2000**, 79: 1810-1816.
- 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: 1729– 1735.
- Coşkun İ.; *Peynir Altı Suyu Tozu ve Enterococcus faecium Bakterisinin Kuluçkalık Yumurtalara Enjeksiyon'unun Etlik Piliçlerin Performans, İleum Histomorfolojisi ve Bağırsak Mikrobiyotasına etkileri. Doktora tezi. 2012. Namık Kemal üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü.*
- Coşkun I.; Erener G.; Şahin A.; Karadavut U.; Altop A.; Okur A. *Impacts of in ovo feeding of dl-methionine on hatchability and chick weight*, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **2014**, 2(1): 47-50.
- Deeming D.C.; Ferguson M.W. *Egg incubation: Its effects on embryonic development in birds and reptiles*, *Cambridge University Press*, **1991**, 17- 28.
- Diarra M.S.; Silversides F.G.; Diarrassouba F.; Pritchard J.; Masson I.; Brousseau R.; Bonnet C.; Delaquis P.; Bach S.; Skura B.J.; Topp E. *Impact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, clostridium perfringens and enterococcus counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimicrobial resistance determinants in escherichia coli isolates*, *Applied and Environmental Microbiology*, **2007**, 73(20): 6566–6576.
- Ferket P.R. *Incubation and in ovo nutrition affects neonatal development*, *33rd Annual Carolina Poultry Nutrition Conferenc*, *New York*, **2006**, 18-30.
- Foye O.T.; Ferket P.; Uni Z. *The effects of in ovo feeding of arginine and/or  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) on glycogen metabolism and growth in turkey poults*, *Poultry Science*, *84th Annual Meeting Abstract 76*, **2005a**, Supl 1, p:9.
- Foye O.T.; Ferket P.; Uni Z. *The effects of in ovo feeding of  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) and arginine on jejunal expression and function in turkeys*, *Poultry Science*, *84<sup>th</sup> Annual Meeting Abstract 76*, **2005b**, Supl 1, p:41.

- Foye O.T.; Uni Z.; Ferket P.R. *Effect of in ovo feeding egg white protein,  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys*, *Poultry Science*, **2006**, 85: 1185-1192.
- Foye, O.T.; Uni, Z.; Ferket, P.R. *The effects of in ovo feeding of protein and  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) on early growth and glycogen status of turkey poults*, *Poultry Science*, **2003a**, 82 Supl 1 p:11.
- Foye, O.T.; Uni, Z.; Ferket, P.R. *The effects of in ovo feeding of protein and carbohydrate on early growth and glycogen status of turkey poults*, *Poultry Science*, **2003b**, 82 Supl 1 p:71.
- Gaafar K.M.; Selim S.A.; El-balla S.S. *Effect of in ovo administration with two levels of amino acids mixture on the performance of Muscovy ducks*, *Animal Science*, **2013**, 25(1): 58-65.
- Geyra A.; Uni Z.; Sklan D. *Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick*, *Poultry Science*, **2001a**, 80: 776- 782.
- Geyra A.; Uni Z.; Sklan D. *The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick*, *British Journal of Nutrition*, **2001b**, 86: 53- 61.
- Hazelwood R.L. *Endocrine control of avian carbohydrate metabolism*, *Poultry Science*, **1971**, 50: 9- 18.
- Holsheimer J.P.; Ruesink E. W. *Effect on performance, carcass composition, yield and financial return of dietary energy and lysine levels in starter and finisher diets fed to broilers*, *Poultry Science*, **1993**, 72: 806–815.
- John T.M.; George J.C.; Moran Jr. E.T. *Metabolic changes in pectoral muscle and liver of turkey embryos in relation to hatching: Influence of glucose and antibiotic treatment of eggs*, *Poultry Science*, **1988**, 67: 463-469.
- Kadam M.M.; Bhanja S.K.; Mandal A.B.; Thakur R.; Vasan P.; Bhattacharyya A.; Tyagi J.S. *Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens*, *British Poultry Science*, **2008**, 49: 736- 741
- Katanbaf M.N.; Dunnington E.A.; Siegel P.B. *Allomorphic relationships from hatching to 56 days in parental lines and F1 crosses of chickens selected 27*

- generations for high and low body weight, *Growth, Development and Aging*, **1988**, 51: 11- 21.
- Keralapurath M.M.; Keirs R.W.; Corzo A.; Bennett L.W.; Pulikanti R.; Peebles E.D. *Effectsof in ovo injection of l-carnitine on subsequent broiler chick tissue nutrient profiles*, *Poultry Science*, **2010**, 89: 335- 341.
- Kerr J.R.; Rigg G.P.; Matthews R.C.; Burnie JP. *The Bpel locus encodes type III secretion machinery in Bordetella pertussis*, *Microbial Pathogenesis*, **1999**, 27(6): 349-367
- 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: 1467-1477.
- Maatman R.; Gross W.B.; Dunnington E.A.; Larsen A.S.; Siegel P.B. *Growth, immune response and behavior of broiler and Leghorn cockerels fed different methionine levels*, *Archieve Geflugelkunde*, **1993**, 57: 249-256.
- Maiorka A.; Santin E.; Dahlke F.; Boleli IC.; Furlan RL.; Macari M. *Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chickens*, *Poultry Science*, **2003**, 12: 483-492.
- Moghaddam A.A.; Borji M.; Komazani D. *Hatchability rate and embryonic growth of broiler chicks following in ovo injection royal jelly*, *British Poultry Science*, **2014**, 55: 3, 391-397.
- Moghaddam, A.; Karimi, I.; Borji, M.; Bahadori, S.; Abdolmohammadi, A. *Effect of royal jelly in ovo injection on embryonic growth, hatchability, and gonadotropin levels of pullet breeder chicks*. *Theriogenology*, **2013**, 80(3):193–198.
- Moran Jr.E.T. *Nutrition of the developing embryo and hatchling*, *Poultry Science*, **2007**, 86: 1043- 1049.
- Nissen S.L.; Abumrad N.N. *Nutritional role of the leucine metabolite  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB)*, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **1997**, 8: 300- 311.
- Noy Y.; Sklan D. *Yolk utilisation in the newly hatched poult*, *British Poultry Science*, **1998**, 39: 446- 451.



- 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: 1430- 1436.
- Ohta Y.; Kidd M.T. *Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs*, *Poultry Science*, **2001**, 80: 1425-1429.
- 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: 1493-1498.
- Panda, A.K.; Ramarao, S.V.; Raju, M.V.L.N.; Sharma S.R. *Dietary supplementation of probiotic *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens*, *The Journal of Poultry Science*, **2006**, 43: 235-240.
- Pearce J. *Carbohydrate metabolism in the domestic fowl*, *Proceedings of the Nutrition Society*, **1971**, 30: 254-259.
- Peebles E.D.; Lumu L.; Miller S.; Pansky T.; Whitmarsh S.; Latour M.A.; Gerard P.D. *Embryo and yolk compositional relationships in broiler hatching eggs during incubation*, *Poultry Science*, **1999**, 78: 1435- 1442.
- Peterson A.L.; Qureshi M.A.; Ferket P.R.; Fuller J.J.C. *In vitro exposure with beta-hydroxy-beta-methylbutyrate enhances chicken macrophage growth and function*, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **1999**, 67: 67-78.
- Romanoff A.L. *The Avian Embryo*. Macmillan. New York, **1960**, 1042–1081
- Sato M.; Tachibana T.; Furuse M. *Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, **2006**, 143: 382- 388.
- Schutte J.B.; Jong J.D.; Smink W.; Pack M. *Replacement value of betaine for DL methionine in male broiler chicks*, *Poultry Science*, **1997**, 76: 321-325.
- Sell J.L.; Angel C.R.; Piquer F.; Mallarino J.E.G.; Al-Batshan H.A. *Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys*, *Poultry Science*, **1991**, 70: 1200- 1205.

- 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**, 2: 123-130
- Sklan D. *Development of the digestive tract of poultry*, *World's Poultry Science Journal*, **2001**, 57: 415- 427.
- Smirnov A.; Tako E.; Ferket P.R.; Uni Z. *Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates*, *Poultry Science*, **2006**, 85: 669- 673.
- Speake B.K.; Murray A.M.B.; Noble R.C. *Transport and transformation of yolk lipids during development of the avian embryo*, *Progress in Lipid Research*, **1998**, 37: 1- 32.
- Starck, J.M.; Ricklefs R.E. *Data set avian growth parameters*. In *Avian Growth and Development: Evolution Within the Altricial–Precocial Spectrum* (ed. J. M Starck and R. E. Ricklefs) pp. 381-423. Oxford: Oxford University Press. 1998.
- Sunny N.E. *Integrating macronutrient metabolism in developing chicken embryos*. PhD Thesis, Dissertation submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland. 2008.
- Tako E.; Ferket P.R.; Uni Z. *Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine*, *Poultry Science*, **2004**, 83: 2023- 2028.
- Tako E.; Ferket P.R.; Uni Z. *Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestine functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration*, *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2005**, 15: 339- 346.
- Uni Z.; Ferket P.R. *Methods for early nutrition and their potential*, *World's Poultry Science Journal*, **2004**, 60: 101- 111.
- Uni Z.; Ferket P.R.; Tako E.; Kedar O. *In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos*, *Poultry Science*, **2005**, 84: 764- 770.
- Uni Z.; Ganot S.; Sklan D. *Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine*, *Poultry Science*, **1998**, 77: 75- 82.

- Uni Z.; Geyra A.; Ben-Hur H.; Sklan D. *Small intestinal development in the young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration*, *British Poultry Science*, **2000**, 41: 544- 551.
- 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*, **2003a**, 82: 1747- 1754.
- 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*, **2003b**, 82: 1747- 1754.
- Uni, Z.; Ferket, P.R. *Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding*. U. S. Regular Patent US 6,592,878 B2 July 15, 2003.
- Willemsen G.; De Geus E.J.C.; Bartels M.; Van Beijsterveldt C.E.M.; Brooks AI; Estourgie-van Burk D.A.; Boomsma DI. The Netherlands Twin Register Biobank: A resource for genetic epidemiological studies. *Twin Research and Human Genetics*, **2010**, 13: 231–245.
- Xu Z.R.; Hu C.H.; Xia M.S.; Zhan X.A.; Wang M.Q. *Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers*, *Poultry Science*, **2003**, 82: 1030- 1036
- Yamauchi K.E.; Kamisoyama H.; Isshiki Y. *Effects of fasting and refeeding on structure of the intestinal villi and epithelial cells in white leghorn hens*, *British Poultry Science*, **1996**, 37: 909- 921.