

**Peynir Altı Suyu Tozu ve Enterococcus faecium  
Bakterisinin Kuluçkalık Yumurtalara  
Enjeksiyon'unun Etlik Piliçlerin Performans,  
İleum Histomorfolojisi ve Bağırsak  
Mikrobiyotasına etkileri  
İsa COŞKUN  
Doktora Tezi  
Zootekni Anabilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI**

**2012**

**T.C.  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**PEYNİR ALTI SUYU TOZU VE *ENTEROCOCCUS FAECIUM*  
BAKTERİSİNİN KULUÇKALIK YUMURTALARA ENJEKSİYON'UNUN  
ETLİK PİLİÇLERİN PERFORMANS, İLEUM HİSTOMORFOLOJİSİ VE  
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASINA ETKİLERİ**

**İsa COŞKUN**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: DOÇ. DR. HASAN ERSİN ŞAMLI**

**TEKİRDAĞ-2012**

**Her hakkı saklıdır.**

Doç. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI danışmanlığında İsa COŞKUN tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı'nda 08.03.2012 tarihinde Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI

*İmza:*

Üye : Doç. Dr. Ali Vaiz GARİPOĞLU

*İmza:*

Üye : Doç. Dr. Murat TAŞAN

*İmza:*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan AKYÜREK

*İmza:*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Doktora Tezi

Peynir Altı Suyu Tozu ve *Enterococcus faecium* Bakterisinin Kuluçkalık Yumurtalara Enjeksiyonunun Performans, İleum Histomorfolojisi ve Bağırsak Mikrobiyotasına Etkileri

İsa COŞKUN

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Danışman: Doç. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI

Bu çalışmanın amacı kuluçkalık yumurtalara Peynir altı suyu tozu (PAST) ve *Enterococcus faecium* bakterisinin enjeksiyonunun broiler performansı, ileal histomorfolojisi, bağırsak mikrobiyotası ve yenilebilir iç organ ağırlıkları üzerine etkilerini belirlemektir. Çalışmada 2 X 2 faktöriyel deneme deseni kullanılmıştır. Çalışmada Ross 308 kuluçkalık yumurtalarına 4 farklı enjeksiyon yapılmıştır, A) kontrol solüsyonu (Saf Su) B) Saf Su + %4 Peynir altı suyu tozu C) Saf Su + *Enterococcus faecium* D) Saf Su + %4 Peynir altı suyu tozu ve *Enterococcus faecium*. Canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, ileum histomorfolojisi, bağırsak mikrobiyotasına ait bulgular ve organ ağırlıkları denemenin 14. ve 21. günlerinde kaydedilmiştir. Araştırmanın sonunda, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında farklılık oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). Denemenin 14. gününde jejunum ağırlığı D grubunda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuş ( $P<0,05$ ), diğer organ ağırlıkları bakımından gruplar arasında farklılık oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). İleumda laktik asit bakteri kolonizasyonu sırasıyla 4.755, 5.271, 4.767 ve 5.758 kob/g olarak bulunmuş ve D grubunda laktik asit bakteri (LAB) kolonizasyonu tüm gruplardan daha yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Villus yüksekliği, villus genişliği, Kript derinliği ve Lamina muscularis mukoza kalınlığı bakımından gruplar arasında farklılık oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). Denemenin 21. gününde ön mide ağırlığı B grubunda C grubuna göre, İleum ağırlığı ise C ve D grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır ( $P<0,05$ ). Çalışmanın sonunda ileumdaki LAB kolonizasyonu sırasıyla 3.677, 4.813, 4.040 ve 5.920 kob/g olarak tespit edilmiş ve en yüksek LAB kolonizasyonu D grubunda bulunmuştur. Araştırma sonunda elde edilen villus boyları sırasıyla 455.2, 484.3, 438.3 ve 541.8 mikron olarak bulunmuş ve D grubundan elde edilen villus boyu diğer gruplardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Araştırma sonunda broiler performansı bakımından gruplar arasında farklılık

oluşmamasına rağmen kuluçkalık yumurtalara *Enterococcus faecium* ve PAST'ın birlikte enjeksiyonu ileumda LAB kolonizasyonunu ve villus boyunun artışıını sağlamıştır. Sonuç olarak *Enterococcus faecium* ve Peynir altı suyu tozunun beraber enjeksiyonunun broilerlerde bağırsak mikrobiyotası ve ileal histomorfoloji üzerine simbiyotik bir etkiye sahip olduğu görülmüş, diğer yandan *Enterococcus faecium* ve PAST'ın birlikte enjeksiyonunun simbiyotik etkilerini sağlamasının daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** İn ovo enjeksiyon, Peynir altı suyu tozu, *Enterococcus faecium*, Etlik piliç

**2012, 80 sayfa**

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

The effects of In Ovo Injection of Dried Whey and *Enterococcus faecium* Bacteria to Fertile Chicken Eggs on Performance, Ileal Histomorphology and Gut Microbiota

İsa COŞKUN

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and applied Sciences

Department of Animal Science

Supervisor: Assoch. Prof. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI

The aim of this research was to determine the effects of in ovo injection of dried whey and *Enterococcus faecium* bacteria to fertile Ross 308 chicken eggs on performance, ileal histomorphology, ileum microbiota and edible viscera weights. In this research 2×2 factorial design was used. Fertile Ross 308 eggs were injected with four different solutions, A) control solution (pure water) B) pure water + %4 dried whey C) pure water + *Enterococcus faecium* D) pure water + %4 dried whey and *Enterococcus faecium*. Live weight, feed consumption, feed conversion ratio and ileal histomorphology, ileum microbiota, organ weight was recorded on 14th days and 21th days of trial. At the end of the research, live weight gain, feed consumption, feed conversion ratio were not different among the groups ( $P>0,05$ ). At the 14th day of trial, jejunum weight was higher in D group compared to control group, other organ weights were not different ( $P>0,05$ ). Lactic acid bacteria (LAB) colonization in ileum was 4.755, 5.271, 4.767 and 5.758 cfu/g respectively and LAB colonization was higher in D group compared to other groups ( $P<0,05$ ). Villus height, villus width, crypt depth and thickness of lamina muscularis mucosae were not different among the groups ( $P>0,05$ ). At the 21st day of trial, proventriculus weight was higher in B group than A group, liver weight was higher in D group than C group, ileum weight was higher in C and D groups than A group ( $P<0,05$ ). At the end of the trial, LAB colonizations in ileum were 3.677, 4.813, 4.040 and 5.920 cfu/g respectively and the highest LAB colonization was in the D group. At the end of the trial, villus height was

455.2, 484.3, 438.3 and 541.8 micron respectively and the highest villus height found in D group ( $P < 0.05$ ). Although broiler performance was not different among the group, it was found that injection of *Enterococcus faecium* and dried whey together provided LAB colonization and increased villus height in ileum. In conclusion, injection of *Enterococcus faecium* and dried whey together has a symbiotic effect on ileal histomorphology and gut microbioata. On the other hand, further researches may be needed to understand their symbiotic effects.

**Keywords :** In ovo injection, Dried whey, *Enterococcus faecium*, Broiler

**2012, pages 80**

## TEŞEKKÜR

Bu eserin ortaya çıkışında birçok engeli aşmamda bana büyük destek veren ve yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI'ya, Tez İzleme Komitesi toplantılarında her zaman yakın ilgilerini gördüğüm ve benden bilgilerini esirgemeyen komite üyeleri hocalarım Doç. Dr. Murat TAŞAN ve Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ' a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin özellikle histolojik laboratuvar incelemeleri sırasında bana destek olan Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD öğretim üyeleri Prof. Dr. Mehmet KANTER ve Doktora öğrencisi Mustafa ERBOĞA ile Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Cevat AKTAŞ'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tezimin yürütülmesinde benden yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Öğr. Gör. Emre TAHTABİÇEN, Öğr. Gör. Kayahan YILMAZ ve Dr Araştırma Görevlisi Aylin Ağma OKUR'a, en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimime devam etmemi sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi öğretim üyesi ve Yüksek Lisans danışmanım Prof. Dr. Ergin ÖZTÜRK ve Namık Kemal Üniversitesi kurucu rektörü Prof. Dr. Nizamettin ŞENKÖYLÜ hocalarıma teşekkür ederim. Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bana bilimsel anlamda destek olan Ahi Evran Üniversitesi Rektör Yardımcısı Prof. Dr. Güray ERENER ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Nuh OCAK ve Prof. Dr. Ahmet GÜLER hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm öğrenim hayatımda her zaman yanımda olan ve desteklerini anneme babama ve ayrıca tezimin tamamlanması sırasında bana olan katkılarından dolayı eşime minnetlerimi sunar ve teşekkür ederim.

İsa COŞKUN  
Tekirdağ, Mart 2012



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. LİTERATÜR ÖZETLERİ</b> .....	5
2.1. Embriyo Gelişimi.....	5
2.1.1. Gelişen embriyoda Besin Metabolizması.....	6
2.1.1.1. Glukoz Metabolizması.....	6
2.1.1.2. Dokuda Glikojen Depolanması.....	7
2.1.1.3. Amino Asit Metabolizması.....	7
2.1.1.4. Lipit Metabolizması.....	8
2.1.2. Embriyonik Dönemde Beslemenin Kuluçka koşulları ve Sindirim Kapasitesine Etkileri.....	9
2.1.3. Embriyonik Dönemde Besleme kuluçka sonrası Gelişim.....	10
2.1.4. İn Ovo Besleme ve Neonatal Gelişim.....	11
2.1.5. İn Ovo Besleme İle Bağırsak Gelişimi ve Sindirim Kapasitesi.....	12
2.2. İn Ovo enjeksiyon Teknolojisi.....	15
2.2.1. Hastalıklarla mücadelede ve Performans Artışı Çalışmaları.....	16
2.2.2. Kuluçkalık Yumurtalarda Enerji Metabolizması ve L – Carnitin.....	19
2.3. Probiyotik Kültürü Olarak <i>E faecium</i> .....	22
2.3.1. <i>E faecium</i> Bakterileri ile Yapılmış Çalışmalar.....	25
2.4. Peynir Altı Suyu Tozunun Hayvan Beslemede Kullanımı.....	26
2.4.1. Peynir Altı Suyu ve Tozu İle İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar.....	28
2.5. Rekabetçi Dışlama.....	29
<b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....	32
3.1. Hayvan Materyali.....	32
3.2. Yem Materyali.....	32
3.3. İn Ovo Enjeksiyon.....	34
3.4. <i>E faecim</i> Bakterileri ve PAST.....	36
3.5. Deneme Ünitesi ve Cıvıv Büyütme.....	36
3.6. Sindirim Kanalı Mikrobiyolojisi.....	37
3.7. Organ Ağırlıkları.....	38
3.8. Kan Sürmelerinin Hazırlanması ve Boyanması.....	38
3.9. İleum Örneklerinin alınması ve Histomorfolojisi.....	38
3.10. İstatistik Analiz.....	40
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA</b> .....	41
4.1. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkisi.....	41
4.2. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun sindirim organ parametrelerine etkileri.....	45

4.3. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri.....	49
4.4. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Histolojisi Üzerine Olan Etkileri.....	54
4.5. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri.....	58
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>60</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar.....	24
Çizelge 2. Peynir Altı Suyunun Bileşimi.....	27
Çizelge 3. Deneme Deseni.....	32
Çizelge 4. Araştırmada Kullanılan Rasyonun İçeriği.....	33
Çizelge 5. Deneme Yemlerinin Besin Madde İçerikleri.....	34
Çizelge 6. Enjeksiyon Çözeltilisinde Bulunan PAST ve <i>E faecium</i> Miktarları.....	36
Çizelge 7. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkileri (0-14 gün).....	42
Çizelge 8. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkileri (0-21 gün).....	42
Çizelge 9. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Sindirim Organ Parametrelerine Etkileri (0-14 gün).....	46
Çizelge 10. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Sindirim Organ Parametrelerine Etkileri (0-21 gün).....	47
Çizelge 11. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri (0-14 gün).....	49
Çizelge 12. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri (0-21 gün).....	51
Çizelge 13. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Morfolojisine Etkileri (0-14 gün).....	55
Çizelge 14. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun İleum Morfolojisine Etkileri (0-21 gün).....	56
Çizelge 15. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri (0-14 gün).....	58
Çizelge 16. Peynir Altı Suyu Tozu ve <i>E faecium</i> Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri (0-21 gün).....	59

## **ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 1. İn Ovo Enjeksiyon Makinesinin Görünümü.....	35
Şekil 2. İn Ovo Enjeksiyon Makinesinde Yumurtalar .....	35
Şekil 3. 21. Günde Broiler İleal Mukozası.....	39

## 1. GİRİŞ

Günümüz tavukları 4000 - 5000 yıl önce eti ve yumurtası için ayrıca oyun ve sergi amacıyla kırmızı orman tavuğundan (*Gallus gallus*) evcilleştirilmiştir (Winter ve Funk 1960, Roberts 1998). Tavuklar binsekizyüz'lü yıllarda Asya ve Avrupa'dan Amerika'ya götürülmüştür. Bindokuzyüzyirmi'lerde tavukçulukta tercih edilen üretim tipi gıda üretiminden çok sergi yarışması şeklindeydi (Winter ve Funk 1960).

Son 50 yılda kanatlı eti ve yumurtası içerdiği yüksek kaliteli protein ile Dünya genelinde halkın en fazla tercih ettiği protein kaynağı olmuştur. Yirminci yüzyılda teknolojik gelişmelerle insanlar köy yaşamından gıda üretiminin daha etkin ve kolay edinildiği kentsel yaşama geçmişlerdir. Kentsel yaşamın giderek artması ile kanatlı ürünlerinin diğer hayvansal kaynaklı ürünlere göre daha ucuz olması nedeni ile tavukçuluk sektörü en popüler hayvansal protein kaynağı olmuştur (Hammerstedt 1999). Son 70 yılda kanatlı sektöründe üst düzeyde gelişim olmuştur. Örneğin 1939'da A.B.D.'de 660.6 milyon tavuk yetiştirilmiş, 2006 da ise 10.9 milyar tavuk üretilmiştir (Winter ve Funk 1960). Ülkemizde tavukçuluktaki durum ise, 1990 yılında etlik piliç üretimi 217 bin ton seviyesinde iken, 2000 yılında 662 bin ton, 2010 yılında 1.430.000 ton üretim düzeyine ulaşmıştır (Anonim 2011). Yılda üretilen 10 milyar adet yumurta da dikkate alındığında, tavukçuluk ürünlerinin ülkenin önde gelen hayvansal protein kaynağı durumuna eriştiğini söylemek mümkündür. Bu nedenle, Türkiye'nin hayvansal protein açığını kapatmada en etkili çözümlerden biri de tavuk eti ve yumurta üretiminin artmasıdır.

Ticari işletmeler açısından giderek artan oranda piliç eti ve yumurta talebini karşılamak, ayrıca kar elde edebilmek için üretim aşamasında çeşitli sağlık koruma önlemleri ve çevresel iyileştirmeler ile verim arttırmak için ıslah çalışmaları uygulanmıştır.

Son dönemlerde tavukçuluk sektöründe elde edilen bu gelişmelere rağmen, üreticiler elde ettikleri kar miktarlarını arttırmak, ayrıca tüketici sağlığını korumak için

dokuda kalıntı bırakmaksızın hayvanların sağlıklarını koruyarak bağışıklık sistemlerinin geliştirilmesini sağlayacak, hayvanın yetiştirme sũresince hastalanmadan yemden daha iyi yararlanmasını sağlayacak daha etkin yollar bulma çabası iãerisindedirler. Bu nedenle, son dœnemlerde araştırmacılar antibiyotiklere alternatif, dokuda kalıntı bırakmayan doğal yem katkı maddelerinin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmışlardır. Bu bağlamda probiyotik, prebiyotik, esansiyel yağ asitleri, organik asitler gibi yem katkı maddeleri üzerine birãok çalışma yapılmış, hem etlik piliã hem de yumurta tavukları üzerine olumlu sonuãlar (Güçlü 2011, Bingöl ve ark. 2010, Awad ve ark. 2008, Awad ve ark. 2009, Yörük ve ark. 2004) elde edilmiş ise de, performans değerleri üzerine etkilerinin olmadığına dair çalışmalar da vardır (Karaoğlu ve Durdağ 2005, Arslan 2004, Çelik ve ark. 2007, Aksu ve Bozkurt 2009, Öztürk ve Yıldırım 2004, Midilli ve ark. 2008). Öte yandan yapılan araştırmalarda farklı çevre şartlarında, hayvanların farklı stres durumlarında değişik sonuãlar alındığı ve stabil sonuãların elde edilmesinin zor olduğu rapor edilmiştir (Öztürk ve Yıldırım 2004). Hayvanlara yetiştirme sırasında sağlık koruma amaçlı olarak canlı aşı uygulamaları yapılmaktadır. Aşı uygulamaları her hayvana bireysel aşılama ya da iãme suyuna katılarak sũrü aşılması şeklinde yapılmakta ise de yapılan bu işlemler hem masraflı hem de iç gücü bakımından yoğun iç gücüne ihtiyaã doğurmaktadır. Bu nedenle iç gücünü minimum düzeye indirgeyebilecek kolay ve güvenilir yöntemler üzerine araştırmalar devam etmektedir. Bu bağlamda 1985 yılında yeni bir uygulama ( İn Ovo Enjeksiyon ) yapılmaya başlanmıştır.

İn ovo enjeksiyon ile kanatlı hayvanlarda bağışıklık sisteminin geliştirilmesi ve kuluãka sonrası performans değerlerinin artırılması çalışmaları henüz çok yaygın olmayan bir yöntemdir ve araştırılması gereken bir çok yönü bulunmaktadır.

Kanatlılarda özellikle etlik piliãlerde performansı etkileyen en önemli unsurların başında bağırsak mikroflorası gelmektedir. Kanatlılarda performans artışı iãin hastalık

unsuru mikroorganizmaların genel mikroflora içerisinde oransal olarak az olması ve hayvanların bağışıklık düzeylerinin yüksek tutulması ile yemi ete dönüştürme oranını düşürmek, tavukçuluk sektörünün karlılığı açısından hayati öneme sahiptir. Dolayısıyla kuluçkadan çıkıştan hemen sonra kanatlı hayvanların bağırsak florasının henüz gelişmemiş olduğu dönemde hayvanların besin maddelerinin sindirimi için gerekli olan mikroorganizma kültürünün ve bu kültürü destekleyerek yararlı bakterilerin artışını sağlayan simbiyotik ürünlerin hayvanlara kuluçka sırasında in ovo enjeksiyonla verilmesi ile kanatlı hayvanların performanslarının arttırılıp arttırılamayacağı bu tezde araştırılan unsurlardan biridir.

İn ovo enjeksiyon yöntemi ile kuluçkalık yumurtalara probiyotik kültürü enjeksiyonu ile yumurtadan çıkıştan sonra civcivlerin bağırsaklarında yemlerin sindirimi için gerekli mikroorganizmaların hazır olarak bulunmaları amaçlanmaktadır. Bu mikroorganizmaların oldukça erken bir dönemde bağırsaktaki mikroflorada dominant olmalarının sağlanması, yemlerin sindirimini arttırarak ve hastalık yapıcı mikroorganizmaların gelişmelerini baskı altına alarak hayvanların hastalıklara karşı daha dirençli olmalarını sağlayabilir. Probiyotiklerin hayatın erken dönemlerinde uygulanması ile istenilen sonuçların elde edildiği Jadamus ve ark. (2001) tarafından bildirilmiştir. Kanatlı hayvanların üretim aşamasında sağlık durumlarını yüksek tutmak için antibiyotik uygulamaları, aşı uygulamaları ve değişik antimikrobiyal özellikte yem katkı maddeleri kullanımı yaygındır ve bu işlemler üretim maliyetini arttırarak kazancı düşürmektedir. Dolayısıyla hayvanların sağlık durumlarını korumak, üretimde karlılık için vazgeçilmez unsur olup aynı zamanda masraflıdır. Probiotiklerin ve prebiyotik unsurlarının embriyo aşamasında yumurtaya enjeksiyonla verilmesi hem hayvanların bağışıklık durumlarını yüksek tutabilir hem de bunun için gerekli maliyeti düşürerek karlı bir üretim sağlayabilir.

Bu tezde simbiyotik ürün olarak %80 laktoz içeriğine sahip olan peynir altı suyu tozu ve *Enterococcus faecium* bakterilerinin in ovo enjeksiyon yöntemiyle yumurtaya verilmesinin kuluçka sonrası etlik piliçlerin performansı, bağırsak mikroorganizmaları ve bağırsak histolojisi üzerine olan etkileri araştırılacaktır.



## **2. Literatür Özeti**

### **2.1. Embriyo Gelişimi**

Kuluçkan döneminin ilk yarısında embriyonun oluşumundan sonra kuluçka sonuna kadar yumurtada birçok senkronize olay meydana gelmektedir. İnkübasyon ısı ve neminin kuluçka sırasında gelişim üzerine büyük bir etkisi vardır. Bu yüzden nemin düşmesi inkübasyon sırasında yumurtada ağırlık kaybını arttırmaktadır (Murray 1925). Kuluçkanın başlangıcında anaerobik glikolizisin başlamasından sonra, embriyo enerji ihtiyacı için yağ asitlerinin oksidasyonundan yararlanır. Kuluçkanın ilk iki haftasında dokulardaki yağ içeriklerinin artmadığı ve kuluçkanın 12. ve 13. gününe kadar embriyonik dokuların, özellikle karaciğerin büyüdüğü bildirilmiştir (Romanoff ve Romanoff 1967).

Kuluçkanın ilk haftasında albümeden suyun yumurta sarısına geçmesinden dolayı yumurta sarının ağırlığı artar ve albümin ağırlığı azalır (Sunny 2008). Albüminden katı maddelerin kaybı kuluçkanın 13. gününe kadar devam eder ve bu maddeler amniotik sıvıya akar, daha sonra bu katı maddeler embriyo tarafından ağızdan alınarak sindirim işlemi başlar (Sunny 2008). Albümin ve amniotik sıvı karışımı yumurta sarısına da geçer ve bu işlem kabuk kırma aşamasına kadar devam eder (Moran 2007).

Yumurtadaki besin maddelerinin kaybı iki aşamada olmaktadır. Birinci aşama kuluçkanın ilk 5 gününde embriyonun ağırlığının artışı sırasında (Romanoff ve Romanoff 1967), ikinci aşama ise son dönemdeki embriyonun enerji gereksiniminin % 90' nının sağlandığı (kuluçkanın 5. ve 20. günleri arasında) enerji üretimi için yumurtadaki yağların kullanıldığı zaman gerçekleşmektedir (Turro ve ark. 1994).

## **2.1.1.Gelişen embriyoda Besin Metabolizması**

### **2.1.1.1. Glukoz Metabolizması**

Kuluçka sırasında yumurtada bulunan glukoz aneorobik katabolizma da enerji kaynağı olarak embriyonik gelişimin başlamasında önemli rol oynar (Moran 2007). Glukozun aneorobik katabolizması ile glukoneogenesisin ön maddesi olan laktik asitin oluşumu sağlanmaktadır. Plazma glukoz konsantrasyonu embriyonik gelişimin ilk dönemlerinden kuluçka sonrası 2 haftalık döneme kadar artmaya devam eder (Hazelwood 1971). Kuluçkanın başlangıcında yumurtadaki düşük glukoz seviyesi embriyonun gelişiminde glukoneogenesisin aktif olduğunu gösteren kan glukoz konsantrasyonunun artmasından kaynaklanır. Glukoneogenesis enzimleri (Pirüvat karboksilaz, Fosfoenolpirüvat karboksikinaz, Glukoz 6 fosfataz) aktiviteyi hızlandırır ve kuluçkanın 17 ve 20. günlerinde pik seviyeye ulaşırlar ve daha sonra seviyeleri düşer (Pearce 1977).

Kuluçka sırasında embriyodaki glukoneogenik aktivite Fosfoenolpirüvat karboksikinaz tarafından düzenlenir. Fosfoenolpirüvat karboksikinaz diğer enzimlerin aktivitelerini etkiler, mitokontri veya Cytosol veya her ikisinde bulunur. Bu yüzden embriyonik gelişim, phosphoenolpyruvate carboxykinase'ın sistosolik formu glukoneogenesiste Krebs döngüsünün ortalarında lipidlerin ve amino asitlerin döngüde katkısından dolayı daha baskındır (Brady ve ark. 1979). Glukoz sentezi öncelikle glukolisis ve glukoneogenesis tarafından glukoz üretilen karaciğerde gerçekleşir. Böbreklerin glukoneogenesise katkısı % 5 ile 50 arasında değişir. Glukoz glikolisis, pentoz fosfat yolu ve ürik asit yolu ile mobilize edilir. Glukozun mobilize edilmiş yolları kuluçkanın safhalarında değişir. Ürik asit yolu kuluçkanın ilk haftasında aktif olurken, glikolisis kuluçkanın daha son dönemlerinde aktif olmaktadır.

Goodridge (1968) embriyonun karaciğer bölümlerinde glikoz oksidasyonunun az olduğunu bildirmiştir. Yine de oksidasyon miktarı 4 haftalık yaşta civcivlerin

karaciğerlerinde 20 kat daha fazladır. Pentoz fosfat yolunun kuluçkanın başlangıç safhası dışında embriyonik gelişimde glukozun dönüşümündeki asıl rolü bilinmemektedir. Diğer karbonhidratların embriyonun metabolizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Fruktoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz'un civcivlerin bağırsaklarından absorbe edildikleri bilinmesine rağmen glukoz oranla miktarları oldukça düşüktür (Hazelwood 1971).

### **2.1.1.2. Dokuda Glikojen Depolanması**

Hepatik glikojen erken dönemde(ilk 6 günde) embriyonik gelişim döneminde depolanmaya başlar, 12. günde pik yapar, 13. günde % 50 düşer, ve sonra 18. gün'e kadar % 400 düzeyinde artar (Hazelwood 1971). Onikinci günde hepatik glikojenin depolanmasındaki düşüş, troit hormonları veya epinefrinin aktivitesinin artışına katkıda bulunur. Glikojen depolanması kuluçka için enerjinin hayati kaynağı oluşunu sağlar ve kuluçkanın çıkışından itibaren yaşamın başlamasıyla karaciğer glikojen seviyesi % 40'tan % 16'ya kadar düşer (Freeman 1969, Moran 2007). Kuluçka sırasında vücut ağırlığı ve farklı dokulardaki glikojen rezervleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (John ve ark. 1988, Christensen ve ark. 1999, Christensen ve ark. 2001). Farklı dokulardaki glikojen depoları enerji gereksinimi için kas proteininin sınırlı mobilizasyonuna katkıda bulunmaktadır (Uni ve ark. 2005).

### **2.1.1.3. Amino Asit Metabolizması**

Embriyo kuluçkanın son yarısında daha fazla doku büyümesi için yumurta içeriğindeki amino asitleri kullanır. Kuluçkanın son aşamasında embriyo tarafından üretilen yüksek düzeydeki amino asit oluşumu, kuluçkanın 19. gününde yumurtada kalan esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitlerin her ikisinin miktarına bağlıdır. Yine de kuluçkanın son aşamasında yumurta da kalan amino asit miktarının embriyonik gelişimi

destekleyecek yeterlilikte olmadığı görülmektedir (Ohta ve ark. 1999). Bu yüzden bu amino asitlerin glutamat ve glutamin gibi bazı kaynaklardan temin edilmesi gerekir. Protein sentezinden ayrı olarak amino asitlerin glukoneogenesis için diğer kaynaklardan sentezlenebildiği bildirilmiştir (Yeung ve Oliver 1967, Mallette ve ark. 1969, Lobley 1992).

#### **2.1.1.4. Lipit 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 ile belirlendiği üzere lipitler embriyo tarafından 13. günde % 65, 21. günde % 44 düzeyinde absorbe edilir (Deeming ve Ferguson 1991). Bu yağ asitlerinin kullanımı protein ve karbonhidratların kullanımına göre ağırlık artışında iki kat enerji sağlar. Kuluçkanın başlangıcında yumurta sarısı ve embriyo yumurtadaki lipitlerin az bir kısmını tüketir. Yine de kuluçkanın son aşamalarında (13. günden sonra) bu tüketim önemli derecede artar. Aslında embriyonik 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 rapor edilmiştir (Pearce 1971, Speake ve ark. 1998).

### **2.1.2. Embriyonik Dönemde Beslemenin Kuluçka koşulları ve Sindirim Kapasitesine Etkileri**

Kuluçka çıkışı öncesi ve sonrasındaki birkaç gün, etlik piliçlerin yaşaması ve gelişmesi için kritik dönemlerdir. Bu dönemlerde kanatlılar yumurtadaki besinlerden dış kaynaklı besinlere geçiş yaparlar. Kuluçka sonlarına doğru yumurtanın oksijen geçirimi ve kuluçka havalandırması az olduğu için oksijen azlığında embriyonun glikojen durumu değişir (Christensen ve ark. 2000a, 2000b) ve enterik gelişim düzensizleşir (Christensen ve ark. 2003). Kuluçka sonlarına doğru embriyodaki glikojen rezervlerinin çoğu çıkış için kullanılır. Daha sonra civciv kuluçka sonrası termoregülasyon, besin alımı ve sindirimini sağlayabileceği döneme kadar glikojen rezervlerini vücut proteinlerinden glukoneogenesis ile tekrar oluşturur. Son dönemdeki embriyonun oksijen tüketimi, çıkış tablalarına alındığı dönemde arttığından bu dönemdeki yüksek sıcaklık kanatlılarda bağırsak ve kalp gelişimini yavaşlatır (Christensen ve ark. 2004a, 2004b, Wineland ve ark. 2006). Besinleri sindirmede ve yeme alışmada sindirim sisteminin fiziksel ve fonksiyonel gelişimini sağlamak için çıkıştan sonra civcivler sınırlı vücut rezervlerini hemen tüketirler. Hemen sonra bağırsağın fonksiyonel kapasitesi artar ve yemleri sindirerek genetik kapasitesinin izin verdiği büyüklüğe kadar büyür, metabolik rahatsızlıklara ve enfeksiyonlara direnç sağlar (Uni ve ark. 2003a, 2003b, 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).

### **2.1.3. Embriyonik Dönemde Besleme Kuluçka Sonrası Gelişim**

Sindirim sistemi kapasitesinin kuluçkadan birkaç gün önceden gelişmeye başlamasına rağmen, gelişimin çoğu kuluçkanın sonlarına doğru besinlerin 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) çünkü bu dönemde enterositlerin hızlı bir artışı görülmüştür (Geyra ve ark. 2001a).

Ek olarak kuluçka sırasında oluşan bağırsak kripleri kuluçkadan çıkıştan birkaç gün sonra açık bir şekilde belirlenebilir (Geyra ve ark, 2001a, Uni ve ark. 2000). Noy ve Sklan (1998) kuluçkadan hemen sonra beslemenin ince bağırsağın morfolojik gelişimini arttırdığını, Geyra ve ark. (2001a), Uni ve ark. (1998) ve Uni ve ark. (2003b) kuluçka sonrası yemlemenin geç yapılmasının ince bağırsak mukozasının gelişimini baskıladığını bildirmişlerdir. Yamauchi ve ark. (1996), 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 geçikmesi ile ince bağırsaklarda koruyucu etki yapan ve sindirime yardımcı münin oluşumunda değişikliğe neden olduğunu bildirmişlerdir. Protein ve enerjinin farklı kaynakları kanatlılarda farklı etkilere sahiptirler (Lilburn 1998). Noy ve Sklan (1998) kuluçkadan hemen sonra civcivlere yemlerin katı, sıvı ya da yarı katı verildiğinde civcivlerin kesim yaşında daha fazla canlı ağırlık ve karkas randımanına sahip olduklarını belirlemişlerdir. Yem ve su geçişi olmaksızın kuluçkanın son dönemlerinde civcivlerin büyümesi yumurta sarısında kalan besinlere 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 olmaktadır (Uni and Ferket 2004). Kuluçkadan hemen sonra yem tüketimi başladığında yemlerden sağlanan besinler yumurtadan sağlanan besinleri tamamlarlar. Kuluçkadan çıkar çıkmaz

yemlemenin başlatılması kas gelişiminin erkenden desteklenmesi için gereklidir (Ferket 2006).

#### **2.1.4. İn Ovo Besleme ve Neonatal Gelişim**

Kuluçkadan çıkıştan hemen sonra civcivleri yemlemek sindirim kapasitesi ve kas gelişimi için önemlidir. Embriyonik dönemde civcivlerin amniyotik sıvıyı ağızdan aldıkları dönemde ilave besinlerle takviye edilmesinin enterik gelişimi hızlandıracağını, sindirim kapasitesini ve besinlerin sindirimini arttırabileceği bildirilmiştir. Embriyonik amniyon sıvısına izotonik sıvı besinlerin 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).

İN ovo yöntemle embriyonun beslenmesi yoluyla yemden yararlanma oranı, kuluçka sonrası ölümler ve hastalıklar, enterik antijenlere karşı bağışıklık, iskelet sistemindeki rahatsızlıklar, kas gelişimi arttırılarak göğüs eti verimi arttırılması gibi birçok avantaj elde edilebileceği Ferket (2006) tarafından bildirilmiştir. Bu sayede etlik piliçlerin büyümelerini baskılayan birçok faktörün azaltılarak üretim maliyetini düşürebileceği bildirilmiştir (Ferket 2006). Etlik piliçlerde hızlı büyüme ve gelişme üzerine in ovo beslemenin birçok yararı yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Uni ve Ferket 2004). Yapılan bir araştırmada in ovo enjeksiyonla yapılan erken dönem beslemesi ile hem etlik piliçlerin hem de hindilerin kuluçka çıkış ağırlıklarının kontrol grubuna göre % 3 ile % 7 oranında geliştiği ve bu ağırlık farklarınının 35. gün'e kadar devam ettiği ve bu avantajların hayvanların genetik yapısına, ebeveyn yaşına, yumurta ebadına ve kuluçka şartlarına bağlı olduğu bildirilmiştir (Uni ve Ferket 2004). İn ovo enjeksiyon ile beslemede besin solüsyonunun etkili olduğu yapılan araştırmalarda gözlemlenmiş, in ovo enjeksiyonla

NaCl, sukroz, maltoz, ve dextrin ilavesinin (Uni ve Ferket 2004, Uni ve ark. 2005),  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -metil butirat (Tako ve ark. 2004), Arginin (Foye ve ark. 2005a, 2005b), Albumin (Foye ve ark. 2003a, 2003b, 2006), ve Çinko-Metionin enjeksiyonunun (Tako ve ark, 2005) performansı arttırdığını bildirmişlerdir.

İn ovo besleme ile kuluçkadan çıkışta canlı ağırlığın ve kuluçka randımanının arttığı (Uni ve Ferket 2004, Uni ve ark. 2005) bildirilmiştir. Uni ve Ferket (2004), Tako ve ark. (2004) in ovo besleme ile civcivlerin bağırsaklarındaki mikrovillilerin kontrol grubuna göre daha fazla yüzey alanına sahip olduğunu, Smirnov ve ark. (2006) ise in ovo besleme ile bağırsak yüzeyindeki patojenlere karşı münin bariyeri oluşumunun kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Tako ve ark. (2005), Foye ve ark. (2005b) in ovo besleme ile bağırsak yüzeyindeki mikrovillilerde bulunan ve sindirim için gerekli enzimlerin arttığını ve aktivitelerinin yükseldiğini ayrıca bağırsak yüzeyinde besin transferini sağlayan taşıyıcıların artışının sağlandığını bildirmişlerdir.

İn ovo besleme ile civcivlerin karaciğerlerinde glikojen depolanmasının arttığı (Uni ve Ferket 2004, Tako ve ark. 2004) ve kuluçkadan çıkışta göğüs eti miktarının ve oranının arttığı (Uni ve ark. 2005, Foye ve ark. 2003a, 2003b, 2005a) bildirilmiştir.

### **2.1.5. İn Ovo Besleme İle Bağırsak Gelişimi ve Sindirim Kapasitesi Gelişimi**

İn ovo beslemenin asıl amacı embriyoların foksiyonel olarak besinleri sindirme ve absorbe etme kapasitesini arttırmak, genetik kapasitelerinin müsaade ettiği verim seviyelerine kadar büyümelerini sağlamaktır (Ferket 2006). 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 kontrol grubuna



göre % 50 düzeyinde arttığını ve villilerdeki sükras-izomaltaz, aminopeptidaz enzimlerinin artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Sindirim kapasitesi hem bağırsak mukozası yüzey alanı hem de villilerdeki sindirim enzimlerinin aktivitelerinin fonksiyonuna bağlıdır. Bağırsak mukozası yüzey alanının ve villilerdeki sindirim enzimlerinin gelişimi enterositlerin çoğalma ve değişim oranı ile belirlenir (Ferket 2006).  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilbutirat içeren birçok besin maddesinin enterositlerin çoğalması ve değişimini etkileyebildiği bildirilmiştir.  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilbutirat esansiyel amino asit olan lösin'in prekürsürüdür ve maksimum hücre büyümesini sağlar (Nissen ve Abumarad 1997, Peterson ve ark. 1999).

Tako ve ark. (2004) kuluçkanın 17. gününde kuluçkalık yumurtalara  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -metil butirat ve karbonhidrat enjeksiyonunu 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.

Foye ve ark. (2005a, 2005b) hindilerde in ovo besleme ile bağırsak mukoza enzimlerinin aktivitelerinin arttığını bildirdikleri çalışmalarında kuluçkanın 23. gününde  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -metil butirat ve arginin enjeksiyonunun sukraz, maltaz ve LAP (Lösin Amino Peptidaz) aktivitesini 48 saat içerisinde önemli derecede arttırdığını ve bu artışın kuluçkadan çıkıştan 14. gün'e kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. Ferket (2006) in ovo besleme ile kanatlıların bağırsaklarındaki mukozanın koruyucu fonksiyonun artırılabilirliğini bildirmiştir. Smirnov ve ark. (2006) kuluçka sırasında bağırsak yüzeyi alanının in ovo besleme ile arttığını gözlemlemiştir. Yine aynı çalışmada kuluçkadan çıkıştan 3 gün sonra kontrol grubuna göre in ovo beslenen civcivlerin villi yüzey alanlarının kontrol grubuna göre % 27 ve % 21 daha yüksek olduğunu, in ovo beslemeden 36 saat sonra asidik müsin salgısını sağlayan goblet hücrelerinin sayısının kontrol grubuna

göre % 50 arttığını bildirmişlerdir. Bu nedenle in ovo besleme ile civcivlerin kuluçkadan çıkıştan sonra patojenlere karşı dayanıklı bakteri popülasyonunu sağlanabileceği bildirilmiştir (Ferket 2006, Smirnov ve ark. 2006)

## 2.2. İn Ovo enjeksiyon Teknolojisi

İn ovo enjeksiyon kuluçkadan çıkıştan önce kuluçkalık yumurtanın içerisine aşı veya besin maddeleri gibi enjeksiyon maddelerinin uygulanmasıdır (Fasenko 2010). Enjeksiyon genelde yumurta inkübatörden çıkış bölümüne alındığında yapılır (Fasenko 2010, Johnston ve ark. 1997). Bu, civcivlerin kuluçkadan önce arzu edilen maddeyi elde etmeleri anlamına gelmektedir ve ayrıca civcivlerin kuluçkadan çıkışta ele alınmaları ve aşılamalarıyla oluşan stresin azalmasını sağlamaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde son 20 yıldır hızla gelişmekte olan tavukçuluk endüstrisi laboratuvar teknolojilerinin gelişimine ayak uydurmuştur. Tavukçulukta yapılan son teknolojilerden in ovo enjeksiyon teknolojisi (EMBREX) 1985 yılında Kanatlı Türlerinde Embriyonal Aşılama ile Hastalık Kontrolü Kuruluşu (USDA) tarafından lisanslanması üzerine geliştirilmiştir (Sharma ve Burmester 1984). Başlangıçtan itibaren 10 yıl içinde EMBREX teknolojisi geliştirilmiş ve pazarda INOVOJECT adıyla tavukçulukta üretim etkinliğini arttıran otomatik yumurta enjeksiyon makinesi olarak yerini almıştır (Gildersleeve ve ark. 1993).

Tavukçuluk sektöründe kuluçkadan çıkan civcivlerin günlük olarak elle aşılama, yerini kuluçkanın 18. gününde rutin olarak kuluçka tepsisine konulduğu zaman yumurta kabuğundan embriyo aşılmasına bırakmıştır. EMBREX otomatik yumurta enjeksiyon makinesi ile saatte 20000 ile 30000 kuluçkalık yumurtanın aşılmasının yapıldığı ve kuluçka sonrası el ile aşılamanın elemine edildiği bildirilmektedir (Gildersleeve ve ark.1993).

Otomatik enjeksiyon makineleri ile aşılamanın embriyoda herhangi bir travmaya neden olmaksızın yumurtaların aşılmasını sağladığı, kuluçka yönetimini kolaylaştırdığı ve canlı üretim maliyetini düşürdüğü bildirilmektedir (Johnston ve ark. 1997).

INOVOJECT sisteminde yumurta kabuğunun üzerindeki hava boşluğuna ince bir enjektörle kabuk açılarak oluşturulan boşluktan enjeksiyon yapılmak suretiyle gerçekleştirilmektedir.

İn Ovo enjeksiyon sistemi ile son 10 yılda kanatlı hayvanlarda yapılan uygulamalarla hayvanların hastalıklara karşı bağışıklık sistemlerinin geliştirilmesi ve performans değerlerinin artırılması için uygulanan özel büyütme faktörlerinin verilmesi gibi birçok farklı çalışmada başarılı sonuçların elde edilmesi ile in ovo enjeksiyon sisteminin kanatlı üretiminde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

### **2.2.1. Hastalıklarla Mücadelede ve Performans Artışı için Yapılan Çalışmalar**

Hastalıklarla mücadelede koksidiyosise karşı canlı aşı uygulaması özellikle parent stok gibi uzun yaşayan ebeveyn hatlar için kabul edilen bir metottur. Büyük sürülerde hastalıktan korunmaya yönelik aşı uygulamalarından sonunda koksidiyosa karşı bağışıklılığın artmasının görülmesi ile daha az yaşayan, üretimdeki 42 günlük etlik piliç sürüleri için de direnç kazanabilecekleri ön görülmüş ve bu konuda çalışmalar yoğunlaşmıştır (Chapman 1997). Araştırmalar bağışıklığın hızlı kazandırılması için piliçleri civciv döneminde göz spreyi uygulamaları gibi canlı aşı uygulamaları üzerine odaklanmıştır (Chapman ve Cherry 1997). Bazı araştırmacılar çalışmalarında canlı aşı uygulamalarını yeme, içme suyuna verilmesi gibi değişik yöntemleri denemişlerdir (Bedrnik ve ark. 1989, Williams 1994). Günümüzde canlı aşılar koksidiya'nın modifiye edilmemiş ve seyreltik halde canlı halini kapsamaktadır (Shirley 1992, Chapman ve ark. 2002).

ABD'de enfeksiyöz bursal, marek ve birçok hastalık için in ovo aşılama artık standart bir uygulama olmuştur (Gagic ve ark. 1999). Laboratuvarında in ovo aşılama zamanla

ticari uygulamalar için geliştirilerek saatte 50000 yumurtanın aşılabilirdiği ticari bir uygulamaya dönmüştür (Williams 2007).

Provaznikova ve Bedrnik (1997) *E. tenella* sporozoitlerini in ovo yöntemle uygulamışlar ve etlik piliçlerin *E. tenella* ya karşı bağışıklık geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Weber ve Evans (2003) koksidiyosise karşı kuluçkanın 18. gününde *E. tenella*'nın sporozoitlerini ve oositlerini enjekte etmişler ve *E. Tenella*'nın sporozoitlerinin ve oositlerinin koksidiyos lezyonlarının azalmasını sağladığını ve *E. tenella* ya karşı bağışıklığın geliştiğini bildirmişlerdir. Weber ve ark. (2004) broyler civcivlerin koksidiyosise karşı bağışıklıklarını sağlamak için 5 farklı etkisiz durumdaki *Eimeria* oosit türü ile (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. praecox*, or *E. brunetti*) in ovo muameleye tabi tutmuşlardır. Bu çalışmada araştırmacılar kuluçkadan 2 hafta sonra oosit enjekte edilen civcivlerin lezyon skorlarının önemli derecede düştüğünü, oosit verilmeyen gruplara göre canlı ağırlıklarının arttığını, dışkılarında da oosit miktarının önemli derecede düştüğünü bildirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre farklı türdeki koksidiyosis ile in ovo yöntemle muamelenin bağışıklığı geliştirdiği sonucuna varmışlardır.

Ricks ve ark. (1999) A.B.D.'de etlik piliç endüstrisinin % 80 den daha fazla kısmının marek hastalığının kontrolü için in ovo aşılama işlemine döndüğünü bildirmektedir. Enjeksiyon zamanlamasının düzenlenmesi, enjeksiyon makinelerinin temizliği, kuluçka yönetimi, aşı karışımının belirlenmesi gibi konularda uzmanlaşarak in ovo enjeksiyonun etkinliğinin arttırıldığını bildirmişlerdir. Ricks ve ark. (1999) newcastle, bronşit, enfeksiyöz bursal hastalığı, bakteriyel ve parazidik aşıları içeren diğer viral aşılar için in ovo enjeksiyon teknolojisinin yayılması çabalarının devam ettiğini bildirmektedirler.

Weber ve Evans (2003) yaptıkları çalışmada tavuk koksidiyosuna karşı *Eimeria tenella* sporozoitleri ( $10^2$ - $10^6$ ) ve oositlerini ( $10^2$ - $10^6$ ) kuluçkanın 18. gününde her

yumurtaya enjekte etmişler ve kuluçkanın 18. gününde yumurtalara in ovo enjeksiyonla *Eimeria tenella* sporozoitleri ve oositlerinin kuluçka randımanını değiştirmediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca kuluçkadan çıkıştan sonra civcivler 14 gün altlıklı sistemde yetiştirilmiş ve 14. günden sonra 21 gün kafes sisteminde yetiştirilmişlerdir. Çalışmada 21. günde hayvanlar oral gavaj yöntemi ile  $2.5 \times 10^4$  dozunda *Eimeria tenella*'nın spor halindeki oositleri ile muamele edilmiş ve 6 gün sonra servikal dislokasyon ile sekal lezyonlar ölçülmüş, *Eimeria tenella* sporozoitleri ve oositlerinin ilavesinin lezyon değerlerini düşürdüğünü ve canlı ağırlık kazancını arttırdığını bildirmişlerdir.

Ahmad ve Sharma (1993) hemorrhagic enteritis ve newcastle hastalığına karşı embriyonik dönemin 24. gününde in ovo enjeksiyonla canlı aşı uygulamasında kuluçkadan çıkan hindilerin bu iki hastalığa karşı bağışıklık geliştirdiklerini belirlemişlerdir. Cox ve ark. (1992) inkübasyonun 17. gününde in ovo enjeksiyonla değişik mikroorganizma kültürlerinin aşılanmasının *Salmonella typhimurium* virüsüne karşı dirençlerinin arttığını belirlemişlerdir. Park ve ark. (2009) enfeksiyöz bursal hastalığı virüsüne karşı canlı ve inaktif aşı uygulamasının civcivleri bu hastalığa karşı korumada etkili bir yöntem olacağını belirlemiştir. Meijerhof ve Hulet (1997) *Salmonella panama* virüsüne karşı kuluçkalık yumurtalara rekabetçi fışlama kültürünün in ovo enjekjiyonla verildiği çalışmalarında, rekabetçi dışlama kültürünü kuluçkalık yumurtaların kuluçkanın 18. gününde hava boşluklarına enjekte etmişler, çalışmanın sonunda rekabetçi dışlama kültürü enjekte edilen yumurtalarda ölüm oranının artmasından dolayı kuluçka randımanının düştüğünü belirlemişlerdir. Meimandipour ve ark. (2010) yaptıkları in vitro çalışmada 42. günlük broylerlerin kesimlerinden sonra elde edilen sekum içeriklerine laktik asit ilave etmişler ve 24 saat inkübe etmişlerdir. Araştırmada sekum içeriğine laktik asit ilavesinin laktik asit ilave edilmeyen gruba göre laktik asit ve *Bifidobacteria* sayısında artış olduğunu ve *Escherichia coli* and *Clostridium butyricum* miktarında değişme olmamasına rağmen

*Salmonella* miktarının düştüğünü belirlemişlerdir. Pavel ve ark. (2010) japon bıldırcınlarında kuluçka döneminin 7. gününde yumurtalara leptin enjeksiyonunun embriyonik dönemde ve kuluçka sonrasında civcivlerin büyüme hızını arttırdığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada yumurtaya leptin ilavesinin embriyolarda kas miktarını arttırdığını ve dolayısıyla yumurta sarısından daha fazla yararlandıklarını tespit etmişlerdir. Keralapurath ve ark. (2010) 28 haftalık Ross 308 sürüsünden elde edilen kuluçkalık yumurtalara solüsyonlar halinde 0,5 - 2,0 ve 8,0 mg L - Karnitin enjekte etmişler ve kuluçkadan çıkıştan sonra L- Karnitin enjeksiyonunun canlı ağırlık artışı, karaciğer ağırlığını, karaciğer glikojen, glikoz ve protein konsantrasyonunu, but ve göğüs eti yağ konsantrasyonunu değiştirdiğini ve 0,5 ile 8,0 mg L - Karnitin enjeksiyonunun karaciğerdeki glikoz konsantrasyonunu düşürdüğünü belirlemişlerdir. Zhai ve ark. (2008) embriyonik gelişim esnasında enerji gereksinimini karşılamak üzere kuluçkanın 17. ve 18. gününde yumurtalara enjekte edilen L -Karnitin ( 0.25 - 0.50 - 1.00 ve 2.00  $\mu\text{mol}$ ) canlı ağırlık artışı, kuluçka randımanını ve yumurta sarısı ağırlığını etkilemediğini saptamışlardır.

### **2.2.2. Kuluçkalık Yumurtalarda Enerji Metabolizması ve L – Karnitin İlişkisi**

Büyüyen embriyo enerji gereksiniminin çoğunu yumurtadaki yağ asidi rezervlerinin  $\beta$ -oksidasyonu ile karşılar (Rinaudo ve ark. 1991). L - Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrial membrandan transferinde önemli rol oynar ve bu yüzden enerji üretimi için yağ asidi oksidasyonunu kolaylaştırır (Friedman and Fraenkel 1955, Fritz 1955). Yine de L–Karnitin embriyoda sentezi sınırlıdır (Borum 1983, Bremer 1983, Rebouche 1992). Ferket (2006) L - Karnitin in ovo enjeksiyonu ile kuluçkadan sonra civcivlerin kas proteinlerinin enerji üretimi için kullanımının azalabileceğini ve böylelikle büyüyen civcivde daha fazla kas oluşumu sağlanılabileceği bildirmiştir. İskelet kası yağ asidi

oksidasyonunun asıl yeridir, bu yüzden yağlardan yararlanmak için dış kaynaklı L – Karnitinin etkisi farklı kas grupları içerisinde belirgin olabilir. Bu bulgular, L – Karnitin verilen piliçlerin yumurta sarısı ağırlığı, karaciğer ve kasların biyokimyasal besin profillerindeki değişikliklerin beklenebileceğini göstermektedir.

Peebles ve ark. (2007) rasyona 25 mg/ kg L – Karnitin ilavesinin 27 - 32 ve 28 haftalık yaşlı etlik piliç damızlık sürülerinin ovaryumlarında yumurta sarısı depolanma düzeyini arttırdığını ve embriyoların yumurta sarısındaki yağ asidi  $\beta$ -oksidasyonunun değiştirdiğini tespit etmişlerdir. Kidd ve ark. (2005) rasyona L – Karnitin ilavesinin aynı damızlık soylarında abdominal yağ düzeyini düşürdüğünü ve aynı hatlarda göğüs eti oranını ise arttırdığını bildirmişlerdir. Clark ve ark. (2007) ratların rasyonuna L- Karnitin ilavesinin karaciğer trigliserid konsantrasyonunda düşmeye neden olduğunu tespit etmiş ve bunu da yağ asitlerinin daha etkin kullanımına bağlamıştır. Arslan (2004) kazların içme suyuna 100 mg/lt L- Karnitin ilavesinin 12 haftalık yaşta karaciğer ağırlığını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Keralapurath ve ark. (2010) kuluçkadan çıkışta 0. günde L- Karnitin enjekte edilmeyen gruplardan farklı olarak 0,5 mg ve 8 mg L- Karnitin enjeksiyonunun karaciğer glukoz seviyelerinde önemli düşüş olduğunu ve bunun da kuluçkadan çıkan civcivlerin karaciğerlerindeki glukoz oksidasyonunun artışından kaynaklandığını bildirmektedirler.

L-Karnitin kuluçkalık yumurtalara enjeksiyonunun kuluçka sonrası etlik piliçlerdeki performans değerlerinin olumlu yönde etkilendiğini bildiren (Kidd ve ark. 2005, Peebles ve ark. 2007) çalışmaların olmasına karşın Zhai ve ark. (2008) kuluçkalık yumurtalara 17. ve 18 günde L- Karnitin enjeksiyonunun kuluçka randımanını ve kuluçka sonrası canlı ağırlık artışını etkilemediğini belirlemişlerdir.

Ingram ve ark. (1997) kuluçka döneminde kuluçkalık yumurtaların çıkış ünitelerine alınmadan önce yumurtalara farklı seviyelerde glukoz enjeksiyonunun etkilerini araştırdığı



çalışmalarında düşük seviyelerdeki glukoz enjeksiyonunun kuluçka randımanını ve çıkışta civciv ağırlığını önemli seviyede arttırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca İpek ve ark. (2004) kuluçkalık yumurlara askorbik asit ve glukoz enjeksiyonunun kuluçka randımanı ve 18-21 günlük dönemde embriyonik ölümlere etki etmediği, 3 mg askorbik asit enjeksiyonunun ise kuluçka randımanını artırarak 18-21 günlük dönemde embriyo ölümlerini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Kadam ve ark. (2008) kuluçkalık yumurtaların 14. gününde yumurtanın sivri ucundan yumurta sarısına treonin enjeksiyonunun kuluçka sonrasında büyümeyi hızlandığını ve yemden yararlanma oranının 10, 20, ve 40 mg treonin enjekte edilenlerde kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ohta ve ark. (2001) kuluçkanın 7. gününde yumurta sarısına in ovo enjeksiyonla amino asit ilavesinin civcivlerin başlangıç CAA/ yumurta ağırlığını (%79) kontrol (%75,9) grubuna göre önemli derece artırdığını belirlemişlerdir.

Maksimum ince bağırsak gelişimi ve canlı ağırlık artışı sağlamak amacı ile kuluçkalık yumurtaların amniyon sıvılarına kuluçkanın 17. gününde in ovo olarak karbonhidrat ve  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilbutirat enjeksiyon eden Tako ve ark. (2004) enjeksiyondan 48 saat sonra kontrol grubuna göre villus genişliğinde ve yüzey alanında artış tespit etmişler, kuluçkadan 3 gün sonra ortalama villus alanının  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilbutirat enjeksiyonu ile %45 karbonhidrat enjeksiyonu ile de %33 arttığını tespit etmişlerdir. Deneme sonunda (kuluçkadan 10 gün sonra) in ovo enjeksiyon ile  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilbutirat ve karbonhidrat enjekte edilen yumurtalardan elde edilen piliçlerin canlı ağırlık artışlarının kontrol grubuna göre %6,2 ve %5 olarak daha yüksek bulmuşlar, yapılan çalışmanın sonunda kuluçkalık yumurtaların amniyon sıvılarına eksojen kaynaklı besinlerin ilavesinin bağırsak gelişimini hızlandırarak canlı ağırlık kazancını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Kocamış ve ark. (1998) kuluçkalık yumurtalara insülin benzeri büyütme faktörü (IGF) ilave etmişler ve kuluçkalık yumurtalara büyüme faktörü enjeksiyonunun kuluçkadan çıkıştan 3 gün sonra etlik piliçlerin canlı ağırlığınının kontrol grubuna göre arttırdığını ve yemden yararlanma oranını ise düşürdüğünü, belirlemişlerdir. Moore ve Siopes (2005) kuluçkalık hindi yumurtalarına melatonin enjeksiyonunun kuluçka sonrası bağışıklık sistemini kontrol grubuna göre güçlendirdiğini belirlemişlerdir.

### **2.3. Probiyotik Kültürü Olarak *Enterococcus faecium***

Probiyotikler, hayvanların sindirim kanalındaki mikrofloranın ekolojik dengesini düzene sokmak, mikroflora içerisindeki potansiyel patojen mikroorganizmaların zararlı hale gelmesini önlemek ve hayvanların yemden yararlanmalarını arttırmak gibi amaçlarla içme suyu ya da yem içerisine karıştırılarak verilen bir grup canlı bakteri, maya ve mantar kültürleri içeren biyolojik ürünlerdir.

Probiyotikler; küfler, mayalar, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Bacillus*'lardan oluşmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar Çizelge 1. 'de verilmiştir.

*Enterococcus* bakterileri probiyotik olarak hem karışım hem de tek başına ticari olarak kullanılmaktadır. *Enterococcus* bakterileri laktik asit bakterileri arasında yer alan hem gıda mikrobiyolojisi, hem de klinik mikrobiyoloji açısından önem taşıyan bakterilerdir (Franz ve ark. 1999, Vuyst ve ark. 2003, Franz ve ark. 2003, Klein 2003).

Laktik asit bakterileri laktik asit üreten bakteriler olup, mukozadan salgılanan mukoz madde içerisinde çoğalırlar ve mukoz maddesi içinde bulunan musini enerji kaynağı olarak kullanırlar (Yıldırım 2002).

*Enterococcus* cinsi bakteriler 1984 yılından önce taksonomide *Streptococcus* cinsi altında yer almaktaydı. *Enterococcus* cinsinin ilk tanımlanması 1899 yılında Thiercelin

tarafından yapılmış ve 1903 yılında Thiercelin ve Jouhaud tarafından *Enterococcus* olarak tanımlanmıştır.

*Enterococcus* cinsi bakteriler her yerde bulunabilme özelliğine sahiptirler. Bu bakteriler insan ve hayvan bağırsaklarında normal floranın bir parçasıdır ve memelilerin gastrointestinal sistemindeki bakterilerin büyük bir kısmını oluştururlar (Giraffa ve ark. 2000, Hugas ve ark. 2003).

*Enterococcus* cinsi bakteriler yüksek sıcaklığa toleransları ve kötü çevresel koşullarda üreyebilmeleri nedeniyle çeşitli ortamlarda kolonize olabilirler. Bu mikroorganizmalara dışkı, toprak, yüzey suları ve bitki materyallerinin yanı sıra et ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalarda oldukça sık rastlanır (Birolo ve ark. 2001, Giraffa 2003, Marekova ve ark. 2002, Kühn ve ark. 2003).

*Enterococcus* cinsi bakteriler çeşitli çevresel ortamlara olan toleransı, sıcaklık direnci ve ısı işlem görmüş gıdalarda mikrobiyel popülasyonları baskılamaları nedeniyle fekal kontaminasyonun belirlenmesi ve gıdalarda hijyen ve temizlik kontrolü amacı ile indikatör mikroorganizmalar olarak kullanılmaktadır (Franz ve ark. 1999, Klein 2003, Birolo ve ark. 2001, Giraffa 2003, Kühn ve ark. 2003).

*Enterococcus*'lar genellikle kümes hayvanları ve çiftlik hayvanlarının beslenmesinde kullanılmakta olup, probiyotik olarak gıda ürünlerinde geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Axelsson 1993, Audisio ve ark. 2000, Rinkinen ve ark. 2002, Saavedra ve ark. 2003).

### Çizelge 1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar..

Bakteriler	
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Lactobacillus reuterii</i>
<i>Bacillus lentus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Bacillus capillosus</i>	<i>Propionibacterium shermanii</i>
<i>Bacteroides suis</i>	<i>Lactococcus cremonis</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Enterococcus diacetylactis</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Enterococcus intermedius</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactococcus thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	Küfler
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Mayalar
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus cellobiosus</i>	<i>Torulopsis candida</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	
<i>Lactobacillus lactis</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	

Sarıca (1999) ve Nir ve Şenköylü (2000)'den uyarlanmıştır.

Probiyotik preparatlar hayvanlarda enterik hastalıkları önlemek amacıyla da kullanılmaktadırlar (Franz ve ark. 1999, Hugas ve ark. 2003). *Enterococcus* cinsi içinde probiyotik özellik gösteren iki tür olarak *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* bildirilmiştir (Franz ve ark. 1999, Birollo ve ark. 2001, Klein ve ark. 1998). *Enterococcus*

*faecium*'un insanlarda diyarenin tedavisinde probiyotik olarak kullanımının, antibiyotik uygulamalarına bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Franz ve ark. 1999). *Enterococcus faecium*'un insanlarda probiyotik etkisi ise kolesterolün sindirim sisteminden kana absorpsiyonunun azaltılması şeklinde ortaya çıkmaktadır (Saavedra ve ark. 2003).

*Enterococcus faecium* aynı zamanda bakteriyosin üretimi ile de dikkat çekmektedir (Ross ve ark. 2002). *Enterococcus faecium*'un ürettiği bakteriyosinler *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium spp*, *Bacillus spp*. ve diğer Gram pozitif patojenik bakteriler ile gıda bozulması yapan bakterilere karşı inhibitör etki gösteren antimikrobiyel peptit veya proteinlerdir (Franz ve ark. 1999, Hugas ve ark. 2003, Giraffa 2003, Marekova ve ark. 2002, Leroy ve ark. 2003, Saavedra ve ark. 2003, Vuyst ve ark. 2003, Callewaert ve ark. 2000).

*Enterococcus*'ların ürettiği bakteriosinler enterosin olarak adlandırılmaktadır. *Enterococcus faecium* tarafından üretilen enterosinler sıcaklığa dirençli katyonik, hidrofobik, ribozomal yapıdaki düşük molekül ağırlıklı class2 bakteriosinleri içinde yer alan antimikrobiyal peptit veya proteinlerdir (Franz ve ark. 1999, Giraffa 2003, Marekova ve ark. 2002, Leroy ve ark. 2003, Vuyst ve ark. 2003).

### **2.3.1. *Enterococcus faecium* Bakterileri ile Yapılmış Çalışmalar**

Yörük ve ark. (2004), yumurta üretiminde humat ve probiyotik katkısının etkisini araştırmışlardır. Çalışmada *Enterococcus*'larında aralarında bulunduğu bakteriyel kültürler kullanılmıştır. Sonuç olarak humat ve probiyotik katkısı yumurta üretimini arttırmış, fakat yumurta kalitesini geliştirmemiştir.

Decroos ve ark. (2004), etlik piliçlerde *Lactobacillus* ve *Enterococcus*'a ait olan 5 probiyotik türün karışımını kullanarak *Clostridium* popülasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda etlik piliçlerin yemlerine probiyotik katılması ile etlik piliçlerdeki *Clostridium* popülasyonunun azaldığını bildirmişlerdir.

Kabir ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada etlik piliçlerin yemlerine *E faecium* bakterisi içeren probiyotik karışımının 2. 4. 5. ve 6. haftalık yaşta canlı ağırlığın kontrol grubuna göre istatistiki olarak yükselttiğini ayrıca 2. 4. ve 6. hafta karkas ağırlığını kontrol grubuna göre arttırdığını bildirmişlerdir.

Kanatlılarda patojen geçişinin asıl yollarından birinin bağırsak mukozası yüzeyi olduğu bildirilmiş ve bağırsağın hastalıklara karşı korunmada önemli bir rolünün olduğu bir çok çalışma sonunda ortaya konulmuştur. Şamlı ve ark. (2007) probiyotik kültürü olarak *Enterococcus faecium* bakterilerini peynir altı suyu tozu ve kombinasyonu şeklinde verdiklerinde, peynir altı suyu tozunun ve *Enterococcus faecium* bakterilerinin ikisinin birlikte verilmesinin etlik piliçlerin bağırsaklarında laktik asit bakterilerinin kolonizasyonunu sağladığı ve *Enterococcus faecium* bakterilerinin etlik piliç performansını arttırdığını belirlemişlerdir.

#### **2.4. Peynir Altı Suyu Tozunun Hayvan Beslemede Kullanımı**

Peynir altı suyu, sütün peynir mayası veya organik asitle pıhtılaştırılmasından ve peynirin esasını oluşturan pıhtının tam yağlı ya da yağsız süttten ayrılmasından sonra geriye kalan yeşilimsi-sarı renkteki sıvı kısımdır (El-Sayed ve ark. 1998, Smithers ve ark. 1996, Spreer 1998, Kosikowski 1982). Peynir altı suyu sütün sanayi yan ürünüdür ve sütün asitleştirilmesi işleminden sonra oluşur (Majewska ve ark. 2009). Peynir altı suyu tozu ise peynir oluşumu sırasında, çöktelden süzülerek elde edilen sıvının ısı ilemlerle toz haline getirilmesinden elde edilir (Kurt 1990). Peynir yapımına göre farklılık göstermekle birlikte, kullanılan sütün %70-90'ı peynir suyu olarak elde kalmaktadır (Uraz 1981).

Değerlendirilmeden atılması durumunda peynir suyunun fabrikadan uzaklaştırılması için özel kanalizasyon sistemine ihtiyaç duyulmakta veya kanalizasyon sisteminin bulunmadığı durumlarda bu maddenin tanklarla taşınması gerekmektedir.

Ancak bu işlem oldukça masraflı olup, uzun zaman almaktadır. Eğer değerlendirilmeyecekse, peynir suyunun atıldığı yerler yerleşim alanlarından uzak olmalı ve peynir suyu kesinlikle akarsu ya da durgun sulara bırakılmamalıdır. Çünkü hiçbir işleme tabi tutulmadan atılan peynir suyundaki organik maddeler su içinde fermantasyona uğrayarak önemli düzeyde çevre kirlenmesine yol açmakta ve atıkların döküldüğü sulardaki canlılar ciddi bir tehlike altında kalmaktadırlar (Kurt 1990).

Peynir işlenen sütün bileşimine ve kalitesine, peynir yapım tekniğine, pıhtılaştırmada kullanılan maya veya asit miktarı ile kalitesine, pıhtılaştırma sıcaklığı ve süresine, pıhtının parçalanma biçimi gibi çok değişik faktörlere bağlı olarak, elde edilen peynir suyunun bileşimi de geniş sınırlar içinde değişim göstermektedir. Bileşim olarak süte benzerlik gösteren peynir suyu, süt kuru maddesinin yaklaşık yarısını, süt şekerinin hemen hemen tamamını, proteinlerin yaklaşık 1/5'ini ve B vitaminlerinin ise büyük bir bölümünü içermektedir (Demirci ve Arıcı 1989). Peynir suyunun bileşimi çizelge 2'de verilmiştir.

**Çizelge 2.** Peynir Altı Suyunun Bileşimi (Uraz, 1981)

<b>Bileşenler</b>	<b>Peynir Suyundaki Miktarı</b>
Su	%93.3
Kuru madde	%6.7
Yağ	%0.9
Protein	%0.9
Süt şekeri	%4.4
Kül	%0.5

Peynir suyunda bulunan kalsiyum, fosfor, laktoz ve serum proteinleri besin değerini artırmaktadır. Ayrıca peynir suyunda bulunan laktoz, kalsiyum ve fosfor gibi mineral maddelerin emilimine yardım ederken, sindirim sırasında ince bağırsaklarda arzu edilen asidik ortamı da oluşturmaktadır. Peynir suyunda % 0.5-1 gibi düşük miktarlarda protein bulunmasına karşın, bunların  $\alpha$ - laktoalbumin,  $\beta$ - laktoglobülin, serum albumini ve

globülinlerden oluşması Peynir Altı Suyunu ve Tozunu değerli bir ürün haline getirmektedir (Demirci ve Arıcı 1989).

#### **2.4.1. Peynir Altı Suyu ve Tozu İle İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar**

Şamlı ve ark. (2007) etlik piliçlerin başlangıç yemlerine % 80 laktoz içeren peynir altı suyu tozu, *E faecium* ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* bakterilerini kombinasyon halinde verdikleri çalışmalarında yeme peynir altı suyu tozu ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* ilave edilen grupların canlı ağırlıklarınının 21. günde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ( $P<0,05$ ) sadece peynir altı suyu tozu ilave edilen grubun canlı ağırlığının ise kontrol ve diğer gruplardan farklı olmadığını ( $P>0,05$ ) bildirmişler ayrıca yeme peynir altı suyu tozu, *E faecium* ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* ilavesinin hem ileumdan alınan örneklerde hem de dışkıdaki laktik asit miktarını arttırdığını, *E faecium* ilavesinin villus boyunu arttırdığını ve peynir altı suyu tozu ilavesinin ise hem kontrol hem de *E faecium* ilavesine göre farksız olduğunu bildirmişlerdir.

Majewska ve ark. (2009) besin değeri bakımından zayıf rasyonla beslenen etlik piliçlerin içme sularına haftada 2 kez 4 er saat peynir altı suyu verdikleri çalışmalarında, besin değerleri bakımından zayıf rasyonla beslenen etlik piliçlerin içme sularına peynir altı suyu ilavesinin performans değerlerinin düşmesini önlediğini ve ölüm oranını kontrol grubuna göre düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Gülşen ve ark. (2002) laktoz ve peynir altı suyu tozunun etlik piliçlerdeki performans ve ileum histolojisi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında rasyona laktoz ve peynir altı suyu tozu ilavesinin canlı ağırlığı arttırdığını, yemden yararlanma oranı ve yem tüketimini etkilemediğini ( $P<0,05$ ) laktoz ilavesinin peynir altı suyu tozu ilave edilen gruba göre plazma hücre sayısını düşürdüğünü bildirmişlerdir.



Burnell ve ark. (1988) domuzlarda organik asit ve peynir altı suyu tozunun performansa etkisini araştırdıkları çalışmalarında, domuzların %15 peynir altı suyu tozu ilave edilen yemleri daha fazla tükettikleri ve daha hızlı ağırlık kazandıkları ( $P<0,05$ ) yemden yararlanma oranında farklılık oluşmadığını bildirmişlerdir.

Cera ve ark. (1988) süttten kesilen domuzların rasyonuna mısır yağı ve peynir altı suyu tozunun performans değerlerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında süttten kesim döneminde peynir altı suyu tozu ilavesinin performans değerlerini arttırdığını ve yemden yararlanma oranını düşürdüğünü belirlemişlerdir.

## 2.5. Rekabetçi Dışlama

Metchnikoff, *Lactobacillus acidophilus* ile fermente edilen süt ürünlerini yüksek düzeyde tüketen Bulgar köylülerinin uzun ömürlü olduğunu fark edince nedenlerini araştırmış ve kalın bağırsakta bulunan zararlı mikroorganizmaların ürettiği zararlı son ürünlerin yoğurttaki yararlı organizmalar tarafından zararsız hale getirildiğini gözlemiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu yararlı etkilerin bağırsakta kolonize olan *L. acidophilus* bakterilerinden kaynaklandığını belirlenmiştir (Rettger ve Chaplin 1921).

Nurmi ve Rantala, (1973) sağlıklı hayvanlara erken yaşta ağız yoluyla faydalı mikroorganizmaları verdiklerinde salmonella kolonizasyonunu engellemişler ve kanatlılarda normal mikrofloranın erkenden oluşturulmasının önemli olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra, Greenberg. (1969), Schleifer. (1985), Mead ve Barrow. (1990), Mulder ve Bolder. (1991) Rekabetçi dışlama (RD) olarak bilinen koruyucu yaklaşımı geliştirmişlerdir.

RD bağırsak lumeninde reseptör yüzeyi sağlayıp epitel hücrelere lokalize olmak için diğer bakterilerle rekabet eden bakterilerin durumunu vurgulamak için kullanılmıştır (Greenberg 1969). Bakterilerin sindirim sisteminde tutunup, kolonize olabilmeleri için

epitelyum hücrelerine fiziksel olarak reseptörleri aracılığıyla yapışmaları gerekir. Probiyotiklerin yerleşme ve çoğalma işleminin süreklilik kazanabilmesi için asidik ortama ve safra tuzlarının aktivitesine karşı koyabilmeleri gerekir.

RD'nın 7 mekanizması vardır (Nir ve Senköylü. 2000).

- 1- Diğer bakteri türleri için düşman bir mikro ekoloji oluşturması
- 2- Bakteriyel reseptör alanının işgal edilmesi
- 3- Bakteriosin adlı antimikrobiyal metabolitlerin üretilmesi
- 4- Besin maddelerinin manipülasyonu
- 5- Metabolizma son ürünleri
- 6- Bakteriyel enzimatik aktivite
- 7- Bağışıklık sisteminin uyarılması

Rekabetçi dışlama kültürü (RDK) kullanımının deneysel sonuçları çelişkilidir. Bazı araştırmacılar RDK kullanımının canlı ağırlığı arttırdığını, yemden yararlanmayı iyileştirdiğini ve yaşama gücünü arttırdığını (Jin ve ark. 1996, Jin ve ark. 1998, Mohan ve ark. 1996), salmonella popülasyonuna (Behling ve Wong 1994, Corrier ve ark. 1994, Hejliecek ve ark. 1995) ve *Coliform* (Jin ve ark. 1996, Jin ve ark. 1998, Rada ve ark. 1995) grubu mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu bildirmelerine rağmen, birçok araştırmacı da RDK'nın ne etlik piliçlerin performansını (Maiolino ve ark. 1992) arttırdığını ne de salmonella popülasyonunu (Adler ve DaMassa 1980, Stavric ve ark. 1991 - 1992 ) etkilediğini belirlemişlerdir.

Bilinen mikroorganizma kültürleri ile birçok çalışmalar yapılmış ve yeme karbonhidratlarla mikroorganizmaların kombine edilmiş bir biçimde verilmesi ile daha

etkin bir RD sağlandığı tespit edilmiştir (Corrier ve ark. 1990, Rambaud ve ark. 1992, Impey ve ark. 1982, Stavric ve ark. 1985, Stavric. 1992).

Bu aşamadan sonra kanatlı hayvanlar ve diğer canlıların bağırsak sisteminde kolonize olabilen zararlı mikroorganizma turleri üzerine karbonhidratların ve RDK' nın spesifik etkileri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Oku 1986, Tokunaga ve ark. 1986). Kanatlılara frukto oligosakkaritlerin (İnulin) rekabetçi dışlama kilturu ile kombine şekilde verilmesinin RDK'nın tek başına verilmesine gure salmonella kolonizasyonuna karşı daha etkili olduğu Bailey ve ark. (1991) tarafından bildirilmiştir. Kanatlılarda bağırsak mikroflorasının kompozisyonunu değiştiren birçok faktorer arasında en onemli yeri yem almaktadır. Genelde kanatlıların sekumlarındaki mikroflora populasyonu yemdeki değişikliklerden az etkilenir (Barnes ve ark. 1972). Fukata ve ark. (1999) kanatlı yemlerine frukto oligosakkarit ilavesinin piliğerin bağırsak mikroflorasını çok az değiştirdiğini bildirmişlerdir.

*Bifidobacteria* ve *lactobacilli* turleri salmonella gibi zararlı mikroorganizmaların istemedikleri çevre şartlarını oluşturdukları için yararlı mikroorganizmalar olarak bilinirler (Tamura 1983). Bunun aksine birçok *Enterobacteria* and *Clostridia* turleri ya istilacı ya da toksik maddeler urettikleri için zararlı mikroorganizmalar olarak gorerulurler. Sonuşta *Bifidobacteria* ve *lactobacilli* turlerinin mikrobiata içerisindeki miktarını arttırarak *Enterobacteria* and *Clostridia* turlerinin miktarını duşurmek hayvanların sağlıkları açısından yararlıdır.

### 3. Materyal ve Metot

#### 3.1. Hayvan Materyali

Denemede ROSS 308 ırkı toplam 120 adet karışık cinsiyette bir günlük etlik piliç civcivleri kullanılmıştır.

#### 3.2. Yem Materyali

Yem materyali olarak mısır ve soya ağırlıklı rasyon kullanılmıştır. Çalışmada civcivler 3 katlı etlik piliç kafeslerinde her bölmeye 5 hayvan düşecek şekilde rastgele dağıtılmıştır. Deneme deseni 2x2 faktöriyel deneme planına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deneme grupları aşağıdaki gibi düzenlenmiştir.

**Çizelge 3.** Deneme Deseni.

<b>Peynir Altı suyu Tozu</b>	<b>YOK</b>	<i>E faecium YOK</i>
		<i>E faecium VAR</i>
	<b>VAR</b>	<i>E faecium YOK</i>
		<i>E faecium VAR</i>

Deneme her muamele için 6 tekerrürlü olup, her tekerrür 5 civcivden oluşmuştur.

Rasyonda kullanılan yem hammaddeleri Çizelge 4.'de, rasyonun besin madde içerikleri ise Çizelge 5.'te verilmiştir. Civcivlere deneme yemleri ve içme suları 21 gün süreyle *ad-libitum* olarak verilmiştir.

**Çizelge 4.** Araştırmada Kullanılan Rasyonun İçeriği (%)

Yem Maddeleri	
Mısır	46,86
Soya 44	41,49
Soya Yağı	6,39
DCP	1,90
Kireç Taşı	1,54
L Lisin	0,84
DL Metiyonin	0,35
Tuz	0,34
Vitamin Premiks	0,25
Mineral Piremiks	0,05

<sup>1</sup>Yemin 1 kilogramında: vitamin A (retinil asetat), 14.000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 5.000 IU; vitamin E, 50 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 3 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 8 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 16 µg; niasin, 20 mg; demir, 80 mg; folik asit, 2 mg; pantotenik asit, 20 mg; biotin, 150 µg; kolin, 1800 mg; bakır, 5 mg; manganez, 100 mg; çinko, 80 mg; selenyum, 150 µg.

**Çizelge 5.** Deneme Yemlerinin Besin Madde İçerikleri

	Kontrol
Metabolik Enerji, kcal/kg	3100
Ham Protein, %	23,00
Ham Selüloz, %	1,03
Ham Yağ, %	8,50
Metiyonin+Sistin, %	1,07
Metiyonin	0,70
Lisin, %	1,50
Kalsiyum, %	1,00
P <sub>kullanılabilir</sub> , %	0,50

### 3.3. İn Ovo Enjeksiyon

İn ovo enjeksiyon Balıkesir/Bandırma da bulunan özel bir kuluçka ünitesinde otomatik enjeksiyon makineleri ile yapılmış, enjeksiyonda her yumurtaya hazırlanan çözeltiler 0,2 ml olacak şekilde verilmiştir.

**Şekil 1.** İn Ovo Enjeksiyon Makinasının Görünümü



**Şekil 2.** İn Ovo Enjeksiyon Makinasında Yumurtalar



Denemede enjeksiyon için hazırlanan her 1 litrelik çözeltiye verilen peynir altı suyu tozu ve *E faecium* miktarları Çizelge 6. da verilmiştir.

**Çizelge 6.** Enjeksiyon Çözeltisinde Bulunan Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Miktarları

<b>Peynir Altı Suyu Tozu</b>	<b>YOK</b>	<i>E faecium</i> <b>YOK</b>
		<i>E faecium</i> <b>VAR (1,75 gr/lt)</b>
	<b>VAR (% 4)</b>	<i>E faecium</i> <b>YOK</b>
		<i>E faecium</i> <b>VAR (1,75 gr/lt)</b>

### 3.4. *E faecium* Bakterileri ve Peynir Altı Suyu Tozu

Denemede kullanılan probiyotik *E faecium* bakteri kültürü özel bir firmadan temin edilmiştir (CYLACTIN® LBC ME10) Cylactin'in veriliş dozajı, etlik piliçlerin canlı ağırlığa aldığı probiyotik miktarının yumurta ağırlığına oranı ile elde edilmiştir.

Denemede kullanılan ve %80 laktoz içeren peynir altı suyu tozu Malkara'da faaliyet gösteren Malkara Birlik Süt ve Süt Mamülleri A. Ş. (MAYBİ) Firmasından sağlanmıştır.

### 3.5. Deneme Ünitesi ve Cıvciv Büyütme

Bir günlük cıvcivler 3 katlı broyler kafeslerine, her bölmeye 5 hayvan düşecek şekilde 6 tekerrür, toplam 24 bölme olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır. Deneme kafesleri (100 x 60 cm), tel ızgara zeminli olup tüm bölmeler gazete ile kaplanmıştır. Denemede damla tipi suluk kullanılmıştır.



Denemede 23 saat aydınlık, 1 saat karanlık olacak şekilde ışıklandırma programı uygulanmıştır.

Performans değerlerini saptamak amacıyla kalan yemler ve hayvanlar haftalık olarak tartılmış ve hayvan başına haftalık yem tüketimi ve canlı ağırlık artışları saptanmıştır.

### **3.6. Sindirim Kanalı Mikrobiyolojisi**

Çalışmada ileum ve sekum içeriklerinde laktik asit bakterileri (LAB), maya ve *Enterobacteriaceae* yoğunluklarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bir g'lık örnekler peptonlu su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile karıştırılıp, mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak bir saati aşmayan zaman zarfında ekim işlemi yapılmıştır. LAB için ekim ortamı olarak MRS Agar, maya için Malt ekstrakt Agar kullanılmıştır. *Enterobacteriaceae* için VRB (Violet Red Bile) Agar kullanılmıştır.

LAB: Ekim Ortamı: MRS Agar, İnkübasyon sıcaklığı: 25 °C, İnkübasyon süresi: 5 gün.

Enterobakteriler: Ekim Ortamı: VRB (Violet Red Bile) Agar, İnkübasyon sıcaklığı: 37 °C, İnkübasyon süresi: 18-20 saat

Maya: Ekim Ortamı: Malt ekstrakt Agar, İnkübasyon sıcaklığı: 30 °C, İnkübasyon süresi: 3 gün (Seale ve ark. 1990)

### 3.7. Organ Ağırlıkları

Sindirim kanalını oluşturan organlar olan ön mide, taşlık, duodenum, jejunum ve ileum tartılmış ve canlı ağırlığa göre standardize edilmişlerdir.

### 3.8. Kan Sürmelerinin Hazırlanması ve Boyanması

Kan örnekleri temiz cam lam üzerine bir damla dökülmüş ve bir lamel yardımı ile sürme işlemi yapılarak havada kurutulmuştur. Metanol ile sabitlenen sürmeler, Giemsa (MERK, 1.09204 azur eosinmethylene-blue solution) boyası ile boyanmıştır. Kan sürmeleri Mikroskop (BX 51 Olympus Japan) ile 40X büyütme ile incelenmiştir. Eritrositlerin boyu ve eni görüntü işleme programı (Motic Images Plus 2.0) kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.9. İleum Örneklerinin Alınması ve Histomorfolojisi

Denemenin 14. ve 21. günlerinde muamele başına 6 tekrür olacak şekilde her tekrürden 2 hayvan toplam 48 hayvan servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülerek 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 Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na götürülmüştür. Burada hazırlanan parafin bloklar, 5 – 6 mikron kalınlığında kesilerek Hematoksilen X Eosin boyası ile boyanmıştır (Xu ve ark, 2003). Bu işlemlerin ardından dijital kameralı mikroskop (Olympus CX31, Japonya) ile fotoğrafları çekilmiştir. Şekil 3. te 21 günlük etlik piliçlerden alınan bağırsak örneği verilmiştir. Bir görüntü işleme ve analiz programında (Motic Images Plus 2.0) ise kript derinliği, *Lamina muscularis mucosae* kalınlığı, villus yüksekliği ve genişliği ölçülmüştür.

**Şekil 3. 21. Günde Etlik Piliç İleal Mukozası.**



- 1) Villus boyu, 2) Villus genişliği 3) Kript derinliği 4) *Lamina muscularis mucosae* kalınlığı

### **3.10. İstatistik Analiz**

Toplanan verilerin istatistik analizleri ANOVA ve Duncan Çoklu karşılaştırma testi ile STATISTICA (1999) programı kullanılarak yapılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

##### 4.1. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkisi

Deneme sonunda elde edilen 14. gün performans değerleri Çizelge 7 de, 21. gün performans değerleri ise Çizelge 8 de verilmiştir.

Denemenin 14. gününde gruplardan elde edilen canlı ağırlıklar (CA) sırasıyla 335,9 - 345,7 - 336,5 ve 345,9 g 21. günde sırasıyla 720,2 - 716,9 - 718,5 ve 781,3 g olarak belirlenmiştir. CA bakımından 14. gün ve 21. günde gruplar arasında istatistiki bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Grupların 14. gündeki yem tüketimleri (YT) ise sırasıyla 444,5 - 441,9 - 470,8 ve 447,5 g 21. gündeki YT'leri de sırasıyla 1013,9 - 985,0 -, 1074,5 ve 1048,8 g olarak belirlenmiş, YT bakımından gruplar arasında istatistiki farklılık gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Ondördüncü günde grupların yemden yararlanma oranları (YYO) oranları ise sırasıyla 14. günde 1,323 - 1,278 - 1,399 - 1,293 ve 21. günde ise 1,408 - 1,374 - 1,495 - 1,34 olarak belirlenmiş olup, gruplar arasında YYO bakımından istatistiki farklılık gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ).

**Çizelge 7.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkileri (14. gün)

			CAA, g	YT, g	YYO
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	335,9	444,5	1,323
		<i>E faecium</i> (+)	345,7	441,9	1,278
	+	<i>E faecium</i> (-)	336,5	470,8	1,399
		<i>E faecium</i> (+)	345,9	447,5	1,293
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			6,216	7,745	0,214
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri		
<b>PAST</b>			0,979	0,324	0,262
<i>E faecium</i>			0,475	0,421	0,112
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,988	0,521	0,538

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. PAST: Peynir altı suyu tozu

**Çizelge 8.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Performans Değerlerine Etkileri (21. gün)

			CAA, g	YT, g	YYO
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	720,2	1013,9	1,408
		<i>E faecium</i> (+)	716,9	985,0	1,374
	+	<i>E faecium</i> (-)	718,5	1074,5	1,495
		<i>E faecium</i> (+)	781,3	1048,8	1,342
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			13,554	22,086	0,038
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri		
<b>PAST</b>			0,248	0,181	0,633
<i>E faecium</i>			0,273	0,549	0,200
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,225	0,972	0,404

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. PAST: Peynir altı suyu tozu

Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin enjeksiyonunun etlik piliçlerin 14. günde ve 21. günde canlı ağırlık artışı bakımından herhangi bir olumlu etkisi oluşmamıştır. Şamlı ve ark. (2007) peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin yeme ilavesinin etlik piliçlerin YYO ve CA arttırdığını bildirdikleri çalışmalarında ve Şamlı ve ark. (2010) tel tabanlı kafes sistemi ile talaş altlıklı kafes sistemlerinde *E faecium* bakterisinin yeme ilavesi ile talaş altlıklı sistemde canlı ağırlığın ve yem tüketiminin diğer gruplara göre yüksek olduğunu bildirmişler ( $P<0,05$ ). Şamlı ve ark. (2007, 2010) yaptıkları iki çalışmada bu çalışmadan farklı olarak *E faecium* bakterilerini ve peynir altı suyu tozunu yeme ilave etmişlerdir. Aynı şekilde, Kabir ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada rasyona *E faecium* bakterilerini içeren probiyotik kültürü ilavesinin etlik piliçlerde performansı kontrol grubuna göre önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Awad ve ark. (2008) *E faecium* bakterilerini ve oligosakkaritleri içeren simbiyotik ürünlerin etlik piliçlerin bağırsak yapısı ve fonksiyonları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bu ürünleri etlik piliçlerin performanslarını arttırdığını, simbiyotik ilavesinin ayrıca ileumda villus boyu/kript boyu oranı ve villus boyunu arttırdığını ( $P<0,05$ ) bildirmişlerdir. Ayrıca Awad ve ark. (2009) simbiyotiklerin etlik piliçlerin rasyonuna ilavesinin CA, karkas randımanı, ve YYO oranlarını hem kontrol hem de probiyotik ilavesine göre istatistiki olarak ( $P<0,05$ ) iyileştirdiğini ve probiyotiklerin ve simbiyotiklerin performans değerleri bakımından antibiyotiklere alternatif olarak büyütme faktörü olarak kullanılabileceklerini bildirmişlerdir.

*E faecium* bakterilerinin rasyona ilave edildiği çalışmalarda hem etlik piliçlerde (Awad ve ark. 2008, Awad ve ark. 2009, Şamlı ve ark. 2007) hem de yumurta tavuklarında (Yörük ve ark. 2004) performansın kontrol grubuna göre arttığı bildirilen çalışmaların yanında, rasyona ilave edilen *E faecium* bakterilerinin performansı etkilemediğini bildiren

(Mountzouris ve ark. 2007, Karaoğlu ve Durdağ. 2005, Arslan. 2004, Çelik ve ark. 2007, Aksu ve Bozkurt. 2009) çalışmaların mevcut olması, elde edilen sonuçların farklı çevre şartlarında, hayvanların farklı stres durumlarında değişik sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen performans değerlerinde de farklılık oluşmamasının nedeni, hayvanların herhangi bir stres faktörüne ve olumsuz çevre şartlarına maruz kalmadan yetiştirme periyodunu geçirmelerinden kaynaklanabilir. Öztürk ve Yıldırım. (2004) yapmış oldukları çalışmalarında rasyona ilave ettikleri probiyotik kültürünün kontrol grubuna göre olumlu etki göstermemesini, rasyona ilave edilen probiyotiklerin etkilerini olumsuz çevre şartlarında ve/veya yetiştirme periyodu boyunca oluşan stres faktörlerinde daha iyi gösterdiklerine bağlamışlardır.

Daha önce yapılan çalışmalarda peynir altı suyu tozunun rasyona ilavesi ile canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı gibi performans değerlerinin iyileştirilemediği ve bunun nedeninin de peynir altı suyu tozunun içerdiği % 80 laktozun bir disakkarit olması ve tek mideli hayvanların bağırsaklarında laktaz faaliyetinin olmamasından dolayı bağırsaklardan absorbe edilememesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Corrier ve ark. 1990b, DeLoach ve ark. 1990, Bilgili ve Moran. 1990). Bu çalışmaların aksine Gülşen ve ark. (2002) etlik piliç yemlerine laktoz ve peynir altı suyu tozu ilavesinin canlı ağırlıkta iyileşme olduğunu bildirmişlerdir.



#### **4.2. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun sindirim organ parametrelerine etkileri**

Peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin kuluçkalık yumurtalara enjeksiyonunun 14. gün ve 21. gün'de sindirim organ parametrelerine etkileri Çizelge 9 ve Çizelge 10'da verilmiştir.

Peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin enjeksiyonu 14. günde sadece jejunum ağırlığını etkilemiş peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjekte edilen grubunun jejunum ağırlığı saf su enjekte edilen kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin kuluçkalık yumurtalara enjeksiyonu ile 21. günde elde edilen ön mide ağırlıkları sırasıyla 0,53 - 0,42 - 0,50 ve 0,46 (gr/CA) olarak elde edilmiş, kontrol grubundan elde edilen ön mide ağırlığının *E faecium* enjeksiyonu yapılan gruptan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,005$ ).

Yirmibirinci günde elde edilen karaciğer ağırlıkları sırasıyla 2,25 - 2,26 - 2,12 ve 2,41 (gr/CA) olarak elde edilmiş, peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un birlikte enjekte edildiği gruptan elde edilen karaciğer ağırlığının sadece peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruba göre daha yüksek ağırlığa sahip olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

Yirmibirinci günde elde edilen jejunum ağırlıkları da sırasıyla 2,61 - 2,96 - 2,60 ve 3,53 olarak bulunmuş peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un birlikte enjeksiyonunun hem kontrol hem de sadece peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan daha yüksek jejunum ağırlığına sahip olduğu belirlenmiştir ( $P<0,05$ ).

Yirmibirinci günde ileum ağırlıkları da sırasıyla 1,33 - 1,70 - 1,77 ve 2,04 (gr/CA) olarak bulunmuştur. peynir altı suyu tozu ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjekte edilen gruptan elde edilen ileum ağırlıklarının kontrol grubundan elde edilen ileum ağırlığından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 9.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Sindirim Organ Parametrelerine Etkileri (0-14 gün) g/CA

			<b>Ön Mide</b>	<b>Taşlık</b>	<b>Kalp</b>	<b>Karaciğer</b>	<b>Pankreas</b>	<b>Duodenum</b>	<b>Jejunum</b>	<b>İleum</b>	<b>Sekum</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	0,70	4,30	0,71	2,91	0,31	1,50	3,47 <b>b</b>	2,01	1,20
		<i>E faecium</i> (+)	0,65	4,65	0,72	2,94	0,37	1,54	3,67 <b>ab</b>	2,03	1,31
	+	<i>E faecium</i> (-)	0,81	4,82	0,65	2,68	0,41	1,41	3,71 <b>ab</b>	1,97	1,26
		<i>E faecium</i> (+)	0,65	4,55	0,67	2,76	0,35	1,63	4,15 <b>a</b>	1,93	1,17
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,036	0,138	0,016	0,047	0,027	0,048	0,104	0,069	0,101
<b>Varyasyon kaynağı</b>			<b>p değerleri</b>								
<b>PAST</b>			0,437	0,472	0,094	0,030	0,479	0,987	0,076	0,638	0,867
<i>E faecium</i>			0,158	0,882	0,713	0,548	1,000	0,196	0,119	0,919	0,945
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,451	0,285	0,875	0,802	0,333	0,401	0,543	0,849	0,641

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. PAST: Peynir altı suyu tozu

**Çizelge 10.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Sindirim Organ Parametrelerine Etkileri (0-21 gün) g/CA)

			Ön Mide	Taşlık	Kalp	Karaciğer	Pankreas	Duodenum	Jejunum	İleum	Sekum
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	0,53 <b>a</b>	3,28	0,56	2,25 <b>ab</b>	0,32	1,00	2,61 <b>b</b>	1,33 <b>b</b>	0,86
		<i>E faecium</i> (+)	0,42 <b>b</b>	3,22	0,58	2,26 <b>ab</b>	0,29	1,09	2,96 <b>ab</b>	1,70 <b>ab</b>	1,05
	+	<i>E faecium</i> (-)	0,50 <b>ab</b>	3,43	0,57	2,12 <b>b</b>	0,35	1,11	2,60 <b>b</b>	1,77 <b>a</b>	1,21
		<i>E faecium</i> (+)	0,46 <b>ab</b>	3,26	0,58	2,41 <b>a</b>	0,31	1,15	3,53 <b>a</b>	2,04 <b>a</b>	1,11
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,016	0,147	0,010	0,048	0,013	0,034	0,131	0,082	0,087
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri								
<b>PAST</b>			0,802	0,765	0,882	0,878	0,396	0,234	0,227	0,010	0,280
<i>E faecium</i>			0,018	0,702	0,554	0,116	0,183	0,359	0,010	0,031	0,804
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,219	0,858	0,882	0,132	0,924	0,974	0,206	0,725	0,432

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. PAST: Peynir altı suyu tozu

Ondördüncü günde yapılan kesimlerde peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonunun jejunum ağırlığını arttırdığını, diğer sindirim organ parametrelerine herhangi bir etki etmediği, yirmibirinci günde ise *E faecium* enjeksiyonunun ön mide ağırlığını kontrol grubuna göre düşürdüğü, peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonunun ise karaciğer ve jejunum ağırlığını arttırdığı belirlenmiştir. Şamlı ve ark. (2007) rasyona *E faecium* ilavesinin pankreas ağırlığını arttırdığını bir diğer çalışmalarında Şamlı ve ark. (2010) *E faecium* ilavesinin taşlık ağırlığını kontrol grubuna göre düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Majewska ve ark. (2009) peynir altı suyu ve laktik asidin etlik piliçlerin içme suyuna katıldığında karaciğer ağırlığını artırdığını, Angelakis ve Raoult (2010) etlik piliçlerin yemlerine *Lactobacillus spp* ilavesinin etlik piliçlerin performansını arttırdığını ve etlik piliçlerin karaciğer ağırlığını kontrol grubuna göre yükselttiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un birlikte enjeksiyonu ile 21 günde karaciğer, jejunum ve ileum ağırlığının yüksek çıkması sindirim sisteminin geliştirdiğini göstermektedir.

Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un birlikte enjeksiyonunun karaciğer, jejunum ve ileum ağırlığını arttırması, etlik piliçlerin performansına istatistiki olarak etki etmemesine rağmen kontrol grubuna göre % 8,51 artış sağlamış olup, bu sonuçlar sindirim sisteminin gelişimini sağladığını göstermektedir.

#### 4.3. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri

Peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun ileum mikrobiyotası üzerine olan etkileri Çizelge 11 ve Çizelge 12 de verilmiştir.

Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonu ile denemenin 14. gününde ileumdan alınan örneklerden elde edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) miktarları sırasıyla 4,755 - 5,271 - 4,767 ve 5,758 kob/g olarak bulunmuş ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonu sonucunda elde edilen LAB bakterilerinin miktarının sadece *E faecium* enjekte edilen gruptan yüksek olduğu *E faecium* enjekte edilen gruptan elde edilen LAB miktarının hem kontrol hem de peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

**Çizelge 11.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri (0-14 gün), kob/g

			<b>LAB</b>	<b>Enterobakteri</b>	<b>Maya</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	4,755 c	5,957 a	5,031 b
		<i>E faecium</i> (+)	5,271 b	6,120 a	5,402 a
	+	<i>E faecium</i> (-)	4,767 c	5,725 ab	4,526 c
		<i>E faecium</i> (+)	5,758 a	5,390 b	5,304 ab
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,089	0,104	0,083
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri		
<b>PAST</b>			<0,001	0,018	0,004
<i>E faecium</i>			<0,001	0,650	<0,001
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			<0,001	0,198	0,043

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

PAST: Peynir altı suyu tozu, LAB: Laktik asit bakterileri

Kob: Koloni oluşturma birimi

Ondördüncü günde elde edilen enterobacteri miktarları sırasıyla 5,957 - 6,120 - 5,725 - 5,390 kob/g olarak bulunmuş, kontrol ve *E faecium* enjekte edilen gruptan elde edilen enterobacteri miktarının peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjekte edilen gruptan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Yirmibirinci günde ise enterobacteri miktarında istatistiki olarak herhangi bir farklılık oluşmamıştır.

Yirmibirinci günde elde edilen LAB bakterilerinin miktarları da sırasıyla 3,677 - 4,813 - 4,040 ve 5,920 kob/g olarak bulunmuştur. Peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjekte edilen gruptan elde edilen LAB miktarının *E faecium* enjekte edilen gruptan yüksek olduğu belirlenmiştir. *E faecium* enjekte edilen gruptan elde edilen LAB miktarının peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan yüksek olduğu ayrıca peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan elde edilen LAB miktarının da kontrol grubundan yüksek olduğu ( $P<0,05$ ) tespit edilmiştir.

**Çizelge 12.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun İleum Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri (0-21 gün), kob/g

			<b>LAB</b>	<b>Enterobacteri</b>	<b>Maya</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	3,677 <b>d</b>	1,770	3,641 <b>c</b>
		<i>E faecium</i> (+)	4,813 <b>b</b>	2,974	3,836 <b>ab</b>
	+	<i>E faecium</i> (-)	4,040 <b>c</b>	1,584	3,707 <b>b</b>
		<i>E faecium</i> (+)	5,920 <b>a</b>	1,578	4,011 <b>a</b>
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,180	0,341	0,056
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri		
<b>PAST</b>			<0,001	0,262	0,249
<i>E faecium</i>			<0,001	0,392	0,023
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			<0,001	0,387	0,599

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

PAST: Peynir altı suyu tozu, LAB: Laktik asit bakterileri

Kob: Koloni oluşturma birimi

Ondördüncü günde elde edilen maya miktarları sırasıyla 5,031 - 5,402 - 4,526 - 5,304 kob/g olarak bulunmuştur. *E faecium* enjeksiyonundan elde edilen maya miktarı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, kontrol grubunun maya miktarı da sadece peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan daha yüksek bulunmuştur (P<0,05). Yirmibirinci günde ise maya miktarları sırasıyla 3,641 - 3,836 - 3,707 ve 4,011 kob/g olarak bulunmuş peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonundan elde edilen maya miktarı sadece peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruba göre daha yüksek bulunmuş, peynir altı suyu tozu enjekte edilen gruptan elde edilen maya miktarı da kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (P<0,05).

Şamlı ve ark. (2007) rasyona peynir altı suyu tozu ve *E faecium* ilave ettikleri çalışmalarında *E faecium* bakterilerinin LAB kolonizasyonunu sağlayarak performans değerlerinde daha yüksek sonuçlar elde etmişler fakat peynir altı suyu tozu + *E faecium* ilavesinin ileum mikrobiyotasında LAB kolonizasyonunu *E faecium* ilavesine göre düşürmesine rağmen yinede kontrol grubundan yüksek kolonizasyonu sağladığını bildirmişlerdir. Şamlı ve ark. (2010) tel tabanlı ve talaş altlıklı kafes sistemlerinde *E faecium* bakterilerinin etkilerini araştırdıkları başka bir çalışmada her iki sistemde rasyona *E faecium* ilavesinin *E Coli* miktarını düşürdüğünün ve mikrobiyota içerisinde LAB kolonizasyonu nu sağladığını bildirmişlerdir.

Akinleye ve ark. (2008) rasyona 1g/1 kg *E faecium* içeren probiyotik karması ilave ettiklerinde performans yönünden herhangi bir olumlu etki olmamasına rağmen etlik piliçlerin patojenlere karşı bağışıklıklarını sağladığını bildirmişlerdir.

Mountzouris ve ark. (2007) *E faecium* bakterilerini de içeren bir probiyotik karmasını etlik piliçleri yemlerine ve içme sularına kattıklarında farkı antibiyotiklerle kıyasladıkları çalışmalarında yeme ve içme suyuna probiyotik ilavesinin *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp* miktarını kontrol grubu ve antibiyotik ilave edilen gruplara göre istatistiki olarak arttırdığını bildirmişlerdir.

Elde edilen sonuçlara göre peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonunun hem 14 hem de 21. günde LAB kolonizasyonu bakımından en yüksek değere sahip olduğu ve hem *E faecium* hem de peynir altı suyu tozunun bireysel enjeksiyonundan da daha yüksek değerde LAB kolonizasyonu sağladığı belirlenmiştir. Enterobakteri ve maya kolonizasyonunda ise 14. günde *E faecium* enjeksiyonu 21. günde ise peynir altı suyu tozu enjeksiyonu en yüksek değeri vermiştir.

Bu çalışmanın sonunda peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonu ile en yüksek LAB kolonizasyonu sağlamış olmamıza rağmen Şamlı ve ark. (2007) yapıkları çalışmada



peynir altı suyu tozu + *E faecium*'un etlik piliçlerin yemlerine ilavesinin *E faecium* ilavesine göre LAB kolonizasyonunu azatlığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara bakıldığında peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonun LAB kolonizasyonu bakımında en yüksek değeri vermesi Corrier ve ark. (1990), Rambaud ve ark. (1992) çalışmaları ile de tutarlılık göstermektedir. Rasyona karbonhidratlarla mikroorganizmaların kombine edilmiş bir biçimde verilmesi ile mikroorganizmaların etkinliğinin artarak daha etkin bir rekabetçi dışlama oluşturulduğu bildirilmiştir (Corrier ve ark. 1990, Rambaud ve ark. 1992).

#### 4.4. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun İleum Histolojisi Üzerine Olan Etkileri

Kuluçkalık Yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun ileum histolojisi üzerine olan etkileri Çizelge 13. ve Çizelge 14. te verilmiştir.

Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonu ile denemenin 14. Gününde ileumdan alınan örneklerden elde edilen villus boyu miktarları sırasıyla 381,0 – 421,3 – 492,0 – 386,6 mikron, villus eni 128,9 – 119,8 – 135,3 – 123,8 mikron, kript boyu 70,1 – 70,0 – 82,3 – 74,7 mikron, kript boyu 58,6 – 52,9 – 55,2 – 54,0 mikron, *Lamina muskularis* kalınlığı da sırasıyla 97,3 – 90,0 – 84,6 – 93,7 mikron olarak tespit edilmiştir (P<0,05).

Elde edilen verilere göre gruplar arasında villus boyu, villus eni, kript boyu, kript eni ve *lamina muskularis* kalınlığı bakımından istatistiki farklılık oluşmamıştır (P<0,05).

Yirmibirinci günde ileumdan alınan örneklerden elde edilen villus boyu miktarları sırasıyla 455,2 – 484,3 – 438,3 – 541,8 mikron, villus eni miktarları sırasıyla 71,9 – 68,0 – 124,7 – 144,2 mikron, kript boyu miktarları sırasıyla 67,5 – 56,7 – 67,2 – 81,0 mikron, kript eni miktarları sırasıyla 45,3 – 35,6 – 58,0 – 59,6 mikron, lamina muskularis kalınlığında sırasıyla 82,5 – 106,5 – 114,8 – 120,8 mikron olarak elde edilmiştir.

**Çizelge 13.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun İleum Morfolojisine Etkileri

(14. Gün, µ)

			<b>Villus Boyu</b>	<b>Villus Eni</b>	<b>Kript Boyu</b>	<b>Kript Eni</b>	<b>Lamina muscularis kalınlığı</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	381,0	128,9	70,1	58,6	97,3
		<i>E faecium</i> (+)	421,3	119,8	70,0	52,9	90,0
	+	<i>E faecium</i> (-)	492,0	135,3	82,3	55,2	84,6
		<i>E faecium</i> (+)	386,6	123,8	74,7	54,0	93,7
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			16,55	5,63	3,07	2,53	2,69
<b>Varyasyon kaynağı</b>			<b>P</b>				
			<b>değerleri</b>				
<b>PAST</b>			0,314	0,493	0,553	0,503	0,874
<i>E faecium</i>			0,388	0,522	0,087	0,269	0,423
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,067	0,897	0,590	0,713	0,157

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

PAST: Peynir altı suyu tozu

**Çizelge 14.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun İleum Morfolojisine Etkileri

(21. Gün, µ)

			<b>Villus Boy</b>	<b>Villus Eni</b>	<b>Kript Boy</b>	<b>Kript Eni</b>	<b>Lamina muscularis kalınlığı</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	455,2 <b>ab</b>	71,9	67,5	45,3	82,5
		<i>E faecium</i> (+)	484,3 <b>ab</b>	68,0	56,7	35,6	106,5
	+	<i>E faecium</i> (-)	438,3 <b>b</b>	124,7	67,2	58,0	114,8
		<i>E faecium</i> (+)	541,8 <b>a</b>	144,2	81,0	59,6	120,8
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			18,06	13,35	4,50	3,37	6,83
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri				
<b>PAST</b>			0,558	0,037	0,342	0,071	0,148
<i>E faecium</i>			0,044	0,779	0,902	0,670	0,339
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,291	0,674	0,331	0,551	0,562

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

PAST: Peynir altı suyu tozu

Etlik piliç ileumlarından 21. günde alınan örneklerde sadece villus boyunda gruplar arasında farklılık oluşmuştur. Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un birlikte enjeksiyonunun sadece peynir altı suyu tozu enjeksiyonuna göre villus boyunu arttırdığı belirlenmiştir (P<0,05).

Pelicano ve ark. (2005) etlik piliçlerde bağırsak mukozası gelişimi üzerine doğal yem katkı maddelerinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında rasyona *E faecium* bakterilerini

içeren probiyotik kültürü ve prebiyotiklerin ilavesi ile etlik piliçlerin bağırsak mukozalarındaki villus boyunun ve kript boyunun arttığını bildirmişlerdir.

Şamlı ve ark, (2007) peynir altı suyu tozu'nun ve *E faecium*'un ve de ikisinin birlikte etlik piliçlerin yemlerine verilmesinin etlik piliçlerin bağırsaklarında LAB kolonizasyonunu sağladığını ve bağırsaklarda villus boyunu arttırdığını belirlemişlerdir.

Awad ve ark. (2009) *Lactobacillus spp* ve simbiyotiklerin etlik piliç performanslarına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında canlı ağırlık, ortalama günlük canlı ağırlık artışı, karkas randımanı ve yemden yararlanma oranı bakımından rasyona simbiyotik ilavesinin hem kontrol hem de probiyotik ilavesine göre istatistiki olarak ( $P<0,05$ ) daha yüksek sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Awad ve ark. (2009) rasyona probiyotik ilavesinin karaciğer ağırlığını arttırdığını, hem probiyotik hem de simbiyotik ilavesinin sindirim sistemi ağırlığını kontrol grubuna göre arttırdığını ( $P<0,05$ ), rasyona hem probiyotik hem de simbiyotik ilavesinin kontrol grubuna göre ileum ve duodenumdaki villi boyu, kript boyunu kontrol grubuna göre arttırdığını ( $P<0,05$ ) bildirmişlerdir.

Araştırmada peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonununun 14. günde ileum morfolojisine herhangi bir etkisi olmamış fakat 21. günde peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonunun ile en yüksek villus boyu elde edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda yem peynir altı suyu tozu ve *E faecium* ilave eden Şamlı ve ark. (2007) *E faecium* ilavesinin villus boyunun hem kontrol hem de peynir altı suyu tozu + *E faecium* ilave edilen gruptan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjekte edilen gruplarda performans değerleri bakımından farklılık oluşmamasına rağmen ileumda LAB kolonizasyonunun sağlanması ve villus boyunun yüksek değerde oluşu peynir altı suyu tozu ile *E faecium* bakterilerinin beraber enjekte edilmesi ile LAB oluşumu ve histolojik parametreler bakımından simbiyotik bir etki gösterdiği görülmektedir.

#### 4.5. Kuluçkalık Yumurtalara Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri

Peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun kuluçkalık yumurtalara enjeksiyonunun eritrosit morfolojisi üzerine olan etkileri Çizelge 15 ve Çizelge 16 da verilmiştir. Denemenin 14. gününde alınan kan örneklerinde eritrosit boyları sırasıyla 11,52 - 12,02 - 12,44 ve 11,96 µm bulunmuş ve *E faecium* enjekte edilen gruptan alına kan örneklerinden elde edilen eritrosit boylarının kontrol grubundan elde edilen eritrosit boylarından uzun olduğu ve 21. günde ise sırasıyla 7,13 - 7,48 - 7,65 - 7,07 elde edilen eritrosit enlerinde (EE) *E faecium* enjekte edilen grubun eritrosit eninin kontrol ve peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjekte edilen grubun eritrosit eni miktarından istatistiki olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

**Çizelge 15.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri (0-14 gün)

			<b>EB µm</b>	<b>EE µm</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	11,52 <b>b</b>	7,40
		<i>E faecium</i> (+)	12,02 <b>ab</b>	7,11
	+	<i>E faecium</i> (-)	12,44 <b>a</b>	7,54
		<i>E faecium</i> (+)	11,96 <b>ab</b>	7,22
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,132	0,080
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri	
<b>PAST</b>			0,101	0,436
<i>E faecium</i>			0,977	0,060
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,060	0,050

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

EB: Eritrosit Boyu, EE: Eritrosit eni, PAST: Peynir altı suyu tozu

**Çizelge 16.** Peynir Altı Suyu Tozu ve *E faecium* Enjeksiyonunun Eritrosit Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri (0-21 gün)

			<b>EB µm</b>	<b>EE µm</b>
<b>PAST</b>	-	<i>E faecium</i> (-)	12,12	7,13 <b>b</b>
		<i>E faecium</i> (+)	12,13	7,48 <b>ab</b>
	+	<i>E faecium</i> (-)	12,19	7,65 <b>a</b>
		<i>E faecium</i> (+)	11,93	7,07 <b>b</b>
<b>Ort.Stand.Hata (SEM)</b>			0,123	0,089
<b>Varyasyon kaynağı</b>			p değerleri	
<b>PAST</b>			0,805	0,716
<i>E faecium</i>			0,619	0,498
<b>PAST X <i>E faecium</i></b>			0,607	0,009

a-b: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

EB: Eritrosit Boyu, EE: Eritrosit eni, PAST: Peynir altı suyu tozu

Peynir altı suyu tozu Enjeksiyonu çalışmanın 14. gününde eritrosit boyunu kontrol grubuna göre arttırmış ( $P < 0,05$ ), yirmibirinci günde ise peynir altı suyu tozu enjeksiyonu sadece eritrosit enini hem kontrol hem de peynir altı suyu tozu + *E faecium* enjeksiyonuna göre arttırmıştır. Şamlı ve ark. (2010) rasyona *E faecium* ilavesi ile eritrosit eni ve eritrosit boyunun değişmediğini bildirmişlerdir. peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun eritrosit eni ve eritrosit boyu üzerine etkilerinin daha detaylı araştırılması gereklidir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonu ile etlik piliçlerin performans değerlerinde herhangi bir farklılık oluşmamıştır. Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonu ile ileumda villus boyunun artışı ve bağırsaklarda LAB kolonizasyonu oluşturması bakımından peynir altı suyu tozu ve *E faecium* bakterilerinin beraber verildiklerinde daha yüksek sonuçlar verdiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un simbiyotik ürün olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Yapılan farklı çalışmalarda da simbiyotik ürünlerin canlılık ağırlık, ortalama günlük canlı ağırlık artışı, karkas randımanı, ve yemden yararlanma oranı bakımından rasyona ilavesinin hem kontrol hem de probiyotik ilavesine göre daha iyi sonuçlar verdiğini ve antibiyotiklere alternatif ürünler olabileceklere daha önce yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir. Kuluçkalık yumurtalara peynir altı suyu tozu ve *E faecium* enjeksiyonunun etlik piliçlerde performans değerleri ve sindirim sistemi parametreleri üzerine olan etkileri belirlenmesine karşın, peynir altı suyu tozu ve *E faecium*'un kuluçkalık yumurtalara enjeksiyonunun hem ayrı etkilerinin hem de simbiyotik etkilerinin daha detaylı araştırmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bu çalışmada in ovo besleme ile yumurtadan çıkacak olan civcivlerin oldukça erken bir dönemde sindirim sistemine probiyotik ve prebiyotik etkili katkıların verilmesinin olumlu etkileri gözlenmiştir. Bu çalışma bağışıklık parametrelerinin de göz önüne alınacağı daha ileri çalışmaların yapılmasına gerek duyulduğunu göstermektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Adler HE, DaMassa AJ (1980). Effect of ingested lactobacilli on *Salmonella infantis* and *E coli* and intestinal flora, pasted vents and chick growth. *Avian Diseases*, 24: 868- 878.
- Ahmad J, Sharma MJ (1993). Protection against hemorrhagic enteritis and newcastle disease in turkeys by embryo vaccination with monovalent and bivalent vaccines. *Avian Diseases*, 37: 485- 491.
- Akinleye SB, Iyayi EA, Afolabi KD (2008). The performance, haematology and carcass traits of broilers as affected by diets supplemented with or without biomin a natural growth promoter. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4: 467- 470.
- Aksu T, Bozkurt AS (2009). Effect of dietary essential oils and/or humic acids on broiler performance, microbial population of intestinal content and antibody titres in the summer season. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15: 185- 190.
- Angelakis E, Raoult D (2010). The increase of *Lactobacillus* species in the gut flora of newborn broiler chicks and ducks is associated with weight gain. *PLoS ONE*, 5(5): e10463
- Anonim (2011). BESD\_BİR. <http://www.besd-bir.org/turkiyekanatliistatistikleri.htm>. (Erişim tarihi: 10.11.2011).
- Arslan C (2004). Effect of dietary probiotic supplementation on growth performance in the rock partridge (*alectoris graeca*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28: 887- 891.
- Awad WA, Ghareeb K, Abdel-Raheem S, Bohm J ((2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 88: 49- 55.

- Awad W, Ghareeb K ve Böhm J (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbiotic containing *Enterococcus faecium* and oligosaccharides. *International Journal of Molecular Sciences*, 9: 2205- 2216.
- Axelsson LT (1993). *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. Salminen S and Wright A V. Marcel Dekker Inc, New York, 1-63.
- Audisio MC, Oliver G, Apella MC (2000). Effect of different complex carbon sources on growth and bacteriocin synthesis of *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology*, 63: 235- 241.
- Bailey JS, Blankenship LC, Cox NA (1991). Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonisation of the chicken intestine. *Poultry Science*, 70: 2433- 2438.
- Barnes EM, Mead GC, Banum DA, Harry EG (1972). The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *British Poultry Science*, 13: 311- 326.
- Bedrnik P, Kucera J, Firmanova A, Jurkovic P (1989). Field vaccination of broilers against coccidiosis. *Avian Pathology*, 18: 255- 264.
- Behling RG, Wong ACL (1994). Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* in chicks by treatment with a single culture plus dietary lactose. *International Journal of Food Microbiology*, 22: 1- 9.
- Bilgili SF, Moran ET (1990). Influence of whey and probiotic supplemented withdrawal feed on the retention of *Salmonella* intubated into market age broilers. *Poultry Science*, 69: 1670- 1674.
- Bingöl N T, Karşlı MA, Aldemir R, Yılmaz O, Türel İ (2010). Etçik piliçlerin yemlerine katılan plantago major ekstraktının performans ve karkas özellikleri üzerine etkisi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21: 49- 53.

- Birollo GA, Reinheimer JA, Vinderola CG (2001). *Enterococci* vs non-lactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yoghurt. *Food Microbiology*, 18: 597- 604.
- Borum PR (1983). Carnitine. *Annual Review of Nutrition*, 3: 233- 259.
- Brady LJ, Romsos DR, Leveille GA (1979). Gluconeogenesis in isolated chicken liver cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 63: 193- 198.
- Bremer F (1983). Carnitine metabolism and functions. *Physiological Reviews*, 63: 1420-1480.
- Burnell TW, Cromwell GL, Stahly TS (1988). Effects of dried whey and copper sulfate on the growth responses to organic acid in diets for weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 66: 1100- 1108.
- Callewaert R, Hugas M, Vuyst LD (2000). Competitiveness and bacteriocin production of *Enterococci* in the production of spanish-style dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 57: 33- 42.
- Cera KR, Mahan DC, Reinhart GA (1988). Effects of dietary dried whey and corn oil on weanling pig performance, fat digestibility and nitrogen utilization. *Journal of Animal Science*, 66: 1438- 1445.
- Chapman HD (1997). Biochemical, genetic, and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. *Avian Pathology*, 26: 221- 224.
- Chapman HD, Cherry TE (1997). Eyespray vaccination: infectivity and development of immunity to *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella*. *Journal of Applied Poultry Research*, 6: 274– 278.
- Chapman HD, Cherry TE, Danforth HD, Richards G, Shirley MW, Williams RB (2002). Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. *International Journal of Parasitology*, 32: 617- 629.

- Christensen VL, Donaldson WE, Nestor KE, McMurtry JP (1999). Effects of genetics and maternal dietary iodide supplementation on glycogen content of organs within embryonic turkeys. *Poultry Science*, 78: 890- 898.
- Christensen VL, Grimes JL, Donaldson WE, Lerner S (2000a). Correlation of body weight with hatchling blood glucose concentration and its relationship to embryonic survival. *Poultry Science*, 79: 1817- 1822.
- Christensen VL, Grimes JL, Donaldson WE, Lerner S (2000b). Paternal influences on turkey embryonic growth in the absence of changes in egg weight and eggshell conductance. *Poultry Science*, 79: 1810- 1816.
- Christensen VL, Wineland MJ, Fasenko GM, Donaldson WE (2001). Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. *Poultry Science*, 80: 1729– 1735.
- Christensen VL, Ort DT, Grimes JL (2003). Physiological factors associated with weak neonatal poult (Meleagris gallopavo). *International Journal of Poultry Science*, 2: 7- 14.
- Christensen VL, Wineland MJ, Yildrum I, Ort DT, Mann KM (2004a). Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affects intestinal maturation of turkey embryos. *International Journal of Poultry Science*, 3: 378- 385.
- Christensen VL, Wineland MJ, Yildrum I, Ort DT, Mann KM (2004b). Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affect cardiac health of turkey embryos. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3: 52- 65.
- Clark R, Balakrishnan A, Waters D, Aggarwal D, Owen K, Koo S (2007). L-carnitine increases liver  $\alpha$ -tocopherol and lowers liver and plasma triglycerides in aging ovariectomized rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 623- 628.

- Corrier DE, Hinton A, Ziprin RL, Beier RC, Deloach JR (1990). Effect of dietary lactose on caecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids and *Salmonella typhimurium* colonisation on broiler chicks. *Avian Diseases*, 34: 617- 625.
- Corrier DE, Hinton A, Ziprin RL, Deloach JR (1990b). Effect of dietary lactose on *Salmonella* colonization of market-age broiler chickens. *Avian Diseases*, 34: 668- 676.
- Corrier DE, Nisbet DJ, Scanlan CM, Tellez G, Hargis BM, Deloach JR (1994). Inhibition of *Salmonella enteritidis* cecal and organ colonization in leghorn chicks by a defined culture of cecal bacteria and dietary lactose. *Journal of food protection*, 56: 377- 381.
- Cox NA, Bailey J S, Blankenship LC, Gildersleeve RP (1992). In ovo administration of a competitive exclusion culture treatment to broiler embryos. *Poultry Science*, 71: 1781- 1784
- Çelik K, Mutluay M, Uzaticı A (2007). Effects of probiotic and organic acid on performance and some tissue in broiler chicks. 6th Symposium of Animal, Biology and Nutrition, 46-51, *Cartea Universitara Archiva Zootechnica*.
- Decroos K, Vercauteren T, Werqun G, Verstraete W (2004). Repression of clostridium population in young broiler chickens after administration of a probiotic mixture. *Communications In Agricultural And Applied Biological Sciences*, 69: 5- 13.
- Deeming DC, Ferguson MW (1991). Egg incubation: Its effects on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge University Press, 17- 28.
- DeLoach JR, Oyofe BA, Corrier DE, Cubena LF, Ziprin RL, Norman JO (1990). Reduction of *Salmonella typhimurium* concentration in broiler chicken by milk whey. *Avian Diseases*, 34: 389- 392.
- Demirci M, Arıcı M (1989). Peyniraltı suyunun önemi, *Hasad Dergisi*, 5: 26- 29.

- El-Sayed MM, Abdel Hamid FF, Ahmed YM, Ali SH, Mansour OY, Abdallah NM (1998). Biochemical studies on proteins from cheese whey and blood plasma byproducts. *Die Nahrung*, 42: 12- 15.
- Fasenko G (2010). The 'Hole' Story: In Ovo Injection In Turkey Eggs. University of Alberta, department of Agricultural, Food and Nutritional Science. <http://www.poultryresearchcentre.com/kms/files/Factsheet5TurkeyinOvoEnglish.pdf>. (Erişim tarihi: 10.11.2011).
- Ferket PR (2006). Incubation and in ovo nutrition affects neonatal development. 33rd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference. 18-30. Newyork.
- Foye OT, Ferket P, Uni Z (2005a). 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*, 84 th Annual Meeting Abst. 76, Supl 1, p: 9.
- Foye OT, Ferket P, Uni Z (2005b). The effects of in ovo feeding of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and arginine on jejunal expression and function in turkeys, *Poultry Science*, 84 th Annual Meeting Abst. 76, Supl 1, p: 41.
- Foye OT, Uni Z, Ferket PR (2003a). The effects of in ovo feeding of protein and beta-methyl-beta-hydroxybutyrate (HMB) on early growth and glycogen status of turkey poults, *Poultry Science*, 82 th Annual Meeting Abst. 76, Supl 1, p: 11.
- Foye OT, Uni Z, Ferket PR (2003b). The effects of in ovo feeding of protein and carbohydrate on early growth and glycogen status of turkey poults, *Poultry Science*, 82 th Annual Meeting Abst. 76, Supl 1, p: 71.
- Foye OT, Uni Z, Ferket PR (2006). Effect of In Ovo Feeding Egg White Protein,  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -Methylbutyrate, and Carbohydrates on Glycogen Status and Neonatal Growth of Turkeys, *Poultry Science*. 85: 1185- 1192

- Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzappel WH (2003). *Enterococci* in foods- A coundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 105- 122.
- Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME (1999). *Enterococci* at the crossroads of food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 1- 24.
- Freeman BM (1969). The mobilization of hepatic glycogen in gallus domesticus at the end of incubation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28: 1169- 1176.
- Friedman S, Fraenkel G (1955). Reversible enzymatic acetylation of carnitine. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 59: 491- 501.
- Fritz IB (1955). The effect of muscle extracts on the oxidation of palmitic acid by liver slices and homogenates. *Acta Physiologica Scandinavica*, 34: 367- 385
- Fukata TK, Sasai K, Miyamoto T, Baba E (1999). Inhibitory effect of competitive exclusion and fructooligosaccharide, single and in combination, on *Salmonella* colonisation of chicks. *Journal of Food Protection*, 62: 229- 233.
- Gagic M, Hill CS, Sharma JM (1999). In ovo vaccination of specific-pathogen free chickens with vaccines containing multiple antigens. *Avian Diseases*, 43: 293- 301.
- Geyra A, Uni Z, Sklan D (2001a). Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80: 776- 782.
- Geyra A, Uni Z, Sklan D (2001b). the effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *British Journal of Nutrition*, 86: 53- 61.
- Gildersleeve RP, Hoyle CM, Miles AM, Murray DL, Ricks CA, Secrest MN, Williams CJ, Womack CL (1993). Developmental performance of an egg injection machine for administration of Marek's disease vaccine. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2: 337- 346.

- Giraffa G, Olivari AM, Nevianie E (2000). Isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from Italian cheeses. *Food Microbiology*, 17: 671- 677.
- Giraffa G (2003). Functionality of *Enterococci* in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 215- 222.
- Goodridge AG (1968). Conversion of [U-14C] Glucose into carbon dioxide, glycogen, cholesterol and fatty acids in liver slices from embryonic and growing chicks. *Biochemical Journal*, 108: 655- 61.
- Greenberg B (1969). Salmonella suppression by known populations of bacteria in flies. *Journal of Bacterology*, 99: 629- 635.
- Güçlü BK (2011). Effects of probiotic and prebiotic (mannanooligosaccharide) supplementation on performance, egg quality and hatchability in quail breeders. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58: 27- 32.
- Gülşen N, Coşkun B, Umucalılar HD, İnal F, Boydak M (2002). Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 56: 131- 139.
- Hazelwood RL (1971). Endocrine control of avian carbohydrate metabolism. *Poultry Science*, 50: 9- 18.
- Hejlícek K, Soukupová A, Moltasová M (1995). Salmonellosis in 1-day old chicks caused by *Salmonella enteritidis*. *Veterinarství*, 45: 16– 18.
- Hugas M, Garria M, Aymerich MT (2003). Functionality of *Enterococci* in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 223- 233.
- Impey CS, Mead GC, George SM (1982). Competitive exclusion of salmonellae from the chick caecum using a defined mixture of bacterial isolates from the caecal microflora of an adult bird. *Journal of Hygiene*, 89: 479- 490.



- Ingram D R, Floyd S, Barr J W, Pittman S T (1997). Influence of in ovo injection of glucose on subsequent body weight. Poultry Science. 86 th Annual Meeting Abst. 76, Supl 1, no: 51.
- İpek A, Sahan U, Yılmaz B (2004). The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. Arch Geflügelk, 68: 132- 135.
- Hammerstedt RH (1999). Symposium summary and challenges for the future. Poultry Science 78: 459- 466.
- Jadamus A, Vahjen W, Simon O (2001). Growth behaviour of a spore forming probiotic strain in the gastrointestinal tract of broiler chicken and piglets. Archives of Animal Nutrition, 54: 1- 17.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S (1996). Influence of dried *Bacillus subtilis* and *Lactobacilli* cultures on intestinal microflora and performance in broilers. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 9: 397- 404.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali AM, Jalaludin S (1998). Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. Animal Feed Science Technology, 70: 197- 209.
- John TM, George JC, Moran Jr ET (1988). Metabolic changes in pectoral muscle and liver of turkey embryos in relation to hatching: Influence of glucose and antibiotic treatment of eggs. Poultry Science, 67: 463-469.
- Johnston PA, Liu H, O'Connell T, Phelps P, Bland M, Tyczkowski J, Kemper A, Harding T, Avakian A, Haddad E, Whitfill C, Gildersleeve R, Ricks CA (1997). Applications in in ovo technology. Poultry Science, 76: 165- 178.
- Kabir SML, Rahman MM, Rahman MB, Rahman MM, Ahmed SU (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science 3: 361- 364,

- Kadam MM, Bhanja SK, Mandal AB, Thakur R, Vasani P, Bhattacharyya A, Tyagi JS (2008). Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *British Poultry Science*, 49: 736- 741
- Karaoğlu M, Durdağ H (2005). The influence of dietary probiotic (*saccharomyces cerevisiae*) supplementation and different slaughter age on the performance, slaughter and carcass properties of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 4: 309- 316.
- Katanbaf MN, Dunnington EA, Siegel PB (1988). 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*, 51: 11- 21.
- Keralapurath MM, Keirs RW, Corzo A, Bennett LW, Pulikanti R, Peebles ED (2010). Effects of in ovo injection of l-carnitine on subsequent broiler chick tissue nutrient profiles. *Poultry Science*, 89: 335- 341.
- Kidd MT, McDaniel CD, Peebles ED, Barber SJ, Corzo A, Branton SL, Woodworth JC (2005). Breeder hen dietary l-carnitine affects progeny carcass traits. *British Poultry Science*, 46: 91- 103.
- Klein G (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of *Enterococci* from food and gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 123- 131.
- Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G (1998). taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 103- 125.
- Kocamış H, Kirkpatrick-Keller DC, Klandorf H, Killefer J (1998). In ovo administration of recombinant human insulin-like growth factor-I alters postnatal growth and development of the broiler chicken. *Poultry Science*, 77: 1913- 1919.
- Kosikowski FV (1982). *Whey and Whey Foods. Cheese and Fermented Milk Foods*, Edwards Brothers Inc, New York, 446-469.

- Kurt A (1990). Süt teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No 573, sayfa 398. Erzurum.
- Kühn I, Iversen A, Möllby R (2003). The phene-plate system for studies of diversity of *Enterococcal* populations from the food chain and the enviroment. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 189- 196.
- Leroy F, Moreno MRF, De Vuyst LD (2003). *Enterococcus faecium* RZS C5, an interesting bacteriocin producer to be used as a co-culture in food fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 235- 240.
- Lilburn MS (1998). Practical aspects of early nutrition for poultry. *The Journal of Applied Poultry Research*, 7: 420- 424.
- Lobley GE (1992). Control of the metabolic fate of amino acids in ruminants: a review. *Journal of Animal Science*.70: 3264- 3275.
- Malette LE, Exton JH, Park CR (1969). Control of gluconeogenesis from amino acids in the perfused rat liver. *The Journal of Biological Chemistry*, 244: 5713- 5723.
- Maiolino R, Fioretti A, Menna LF, Meo C (1992). Research on the efficiency of probiotics in diets for broiler chickens. *Nutr Abstr Rev Ser*, 62: 482- 486.
- Majewska T, Pudyszak K, Kozłowski K, Bohdziewicz K, Matusevičius P (2009). Whey and lactic acid in broiler chickens nutrition. *Veterinariija Ir Zootechnika (Vet Med Zoot)*. T. 47: 69.
- Marekova M, Laukova A, Vuyst LD, Skaugen M, Nes IF (2002). Partial characterization of bacteriocins produced by enviromental strain *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 523- 530.
- Mead GC, Barrow PA (1990). *Salmonella* control in poultry by ‘competitive exclusion’ or immunisation. *Letters in Applied Microbiology*, 10: 221- 227.
- Meijerhof R, Hulet RM (1997). In ovo injection of competitive exclusion culture in broiler hatching eggs. *The Journal of Applied Poultry Research*, 6: 260- 266.

- Meimandipour A, Shuhaimi M, Soleimani AF, Azhar K, Hair-Bejo M, Kabeir B M, Javanmard A, Muhammad AO, Yazid AM (2010). Selected microbial groups and short-chain fatty acids profile in a simulated chicken cecum supplemented with two strains of *Lactobacillus*. *Poultry Science*, 89: 470- 476.
- Midilli M, Alp M, Kocabağlı N, Muğlalı ÖH, Turan N, Yılmaz H, Çakır S 2008. Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. *South African Journal of Animal Science* 38: 21- 27
- Mohan B, Kadirvel R, Natarajan A, Bhaskaran M (1996). Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers. *British Poultry Science*, 37: 395- 401.
- Moore CB, Siopes TD (2005). Enhancement of cellular and humoral immunity following embryonic exposure to melatonin in turkeys (*Meleagris gallopavo*). *General and Comparative Endocrinology*, 143: 178- 183.
- Moran Jr ET (2007). Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 86: 1043- 1049.
- Mountzouris KC, Tsirtsikos P, Kalamara E, Nitsch S, Schatzmayr G, Fegeros K (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science* 86: 309- 317.
- Mulder RWA, Bolder NM (1991). Experience With Competitive Exclusion in The Netherlands. *Colonization Control of Bacterial Enteropathogens in Poultry*, Blankenship L C. New York Academic Press, 77-89.

- Murray HA (1925). Physiological ontogeny. A. Chicken embryos. II. Catabolism. Chemical changes in fertile eggs during incubation. Selection of standard conditions. The Journal of General Physiology, 5: 1- 37.
- Nir I, Senkoylu N (2000). Kanatlılar İçin Sindirimi Destekleyen Yem Katkı Maddeleri. ISBN 975-93691-0-9, Tekirdağ, 213.
- Nissen SL, Abumrad NN (1997). Nutritional role of the leucine metabolite  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB), The Journal of Nutritional Biochemistry, 8: 300- 311.
- Noy Y, Sklan D (1998). Yolk utilisation in the newly hatched poult. British Poultry Science, 39: 446- 451.
- Nurmi EV, Rantala M (1973). New aspect of *Salmonella* infection in broiler production. Nature, 241: 210- 211.
- Ohta Y, Tsushima N, Koide K, Kidd MT, Ishibashi T (1999). Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. Poultry Science, 78: 1493-1498.
- Ohta Y, Kidd MT, Ishibashi T (2001). Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. Poultry Science, 80: 1430- 1436.
- Oku T (1986). Metabolism of a new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) and its applications. Nutrition Magazine, 44: 291- 306.
- Öztürk E, Yıldırım A (2004). Probiyotiklerin etlik piliçlerin performansı ve bağırsak mikrobiyolojik özelliklerine etkileri. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Cilt 2. 152-156, ISPARTA.
- Park JH, Sung HW, Yoon BIL, Kwon HM 2009. Protection of chicken against very virulent IBDV provided by in ovo priming with DNA vaccine and boosting with killed vaccine

- and the adjuvant effects of plasmid-encoded chicken interleukin-2 and interferon- $\gamma$ .  
*Journal of Veterinary Science*, 10: 131- 139.
- Pavel Výboh, Michal Zeman, Boris Bilčík, Božena Šárníková, Lubor Košťál (2010).  
Angiogenic effect of leptin in the quail chorioallantoic membrane. *Acta Veterinaria  
Brno*, 79: 13- 17.
- Pearce J (1971). Carbohydrate metabolism in the domestic fowl. *Proceedings of the Nutrition  
Society*, 30: 254- 259.
- Pearce J (1977). Some differences between avian and mammalian biochemistry. *International  
Journal of Biochemistry*, 8: 269- 275.
- Peebles ED, Kidd MT, McDaniel CD, Tanksley JP, Parker HM, Corzo A, Woodworth JC  
(2007). Effects of breeder hen age and dietary l-carnitine on progeny embryogenesis.  
*British Poultry Science*, 48: 299- 307.
- Peebles ED, Lumu L, Miller S, Pansky T, Whitmarsh S, Latour MA, Gerard PD (1999).  
Embryo and yolk compositional relationships in broiler hatching eggs during  
incubation. *Poultry Science*, 78: 1435- 1442.
- Pelicano ER, Souza PA, Souza HBA, Figueiredo DF, Boiago MM, Carvalho SR, Bordon VF  
(2005). Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth  
promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7: 221- 229.
- Peterson AL, Qureshi MA, Ferket PR, Fuller JJC (1999). In vitro exposure with beta-  
hydroxy-beta-methylbutyrate enhances chicken macrophage growth and function.  
*Veterinary Immunology and Immunopathology*, 67: 67- 78.
- Provaznikova M, Bedrník P (1997). Vaccination of chickens against coccidiosis during  
embryonal development. VIIth International Coccidiosis Conference and COST820  
Workshop, 100-101, Keble College, Oxford UK.

- Rada V, Marounek M, Rychly I, Santruckova D, Vorisek K (1995). Effect of *Lactobacillus salivarius* administration on microflora in the crop and caeca of broiler chickens. *Journal of Animal. Feed Science*, 4: 161- 170.
- Rambaud JC, Bouhnik Y, Marteau P (1992). Manipulation of the human gut flora. *Proceedings of the First Anglo-French Symposium on Human and Animal Nutrition*, 29–34, Paris.
- Rebouche CJ (1992). Carnitine function and requirements during the life cycle. *The FASEB Journal*, 6: 299- 307.
- Rettger LR, Chaplin HA (1921). *Treatise on The Transformation of The Intestinal Flora with Special Reference to The Implantation of Bacillus acidophilus*. Yale University Press, Connecticut.
- Ricks CA, Avakian A, Bryan T, Gildersleeve R, Haddad E, Ilich R, King S, Murray L, Phelps P, Poston R, Whitfill C, Williams C (1999). In ovo vaccination technology. *Advances in Veterinary Medicine*, 41: 495- 515.
- Rinaudo MT, Curto M, Bruno R, Piccinini M, Marino C (1991). Acid soluble, short chain esterified and free carnitine in the liver, heart, muscle and brain of pre and post hatched chicks. *International Journal of Biochemistry*, 23: 59- 65.
- Rinkinen M, Jalava K, Westemarck E, Salminen S, Ouwehand AC (2002). Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: A risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization. *Veterinary Microbiology*, 92: 111- 119.
- Roberts V (1998). *Poultry for Anyone*. Whittet Books, Cambs, 142.
- Romanoff AL (1960). *The Avian Embryo*. Macmillan, 1042–1081 New York.
- Romanoff AL, Romanoff AJ (1967). *The biochemistry of the avian embryo: a quantitative analysis of prenatal development*. Interscience Publishers, 398..

- Ross PR, Morgan S, Hill C (2002). Preservation and fermentation: Past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 3- 16.
- Saavedra L, Taranto MP, Sesma F, Valdez GF (2003). Hommade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 241- 245.
- Şamlı HE, Şenköylü N, Koç F, Kanter M, Ağma A (2007). Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. *Archives of Animal Nutrition*, 61: 42- 49.
- Şamlı HE, Dezcan S, Koç F, Özdüven ML, Ağma AO, Şenköylü N (2010). Effects of *Enterococcus faecium* supplementation and floor type on performance, morphology of erythrocytes and intestinal microbiota in broiler chickens. *British Poultry Science*, 51: 564- 568.
- Sarıca Ş (1999). Kanatlı hayvan beslemede probiyotik kullanımı. *Hayvansal Üretim*, 39-40: 105- 112.
- Sato M, Tachibana T, Furuse M (2006). Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 143: 382- 388.
- Schleifer JH (1985). A review of the efficacy and mechanism of competitive exclusion for the control of *Salmonella* in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 41: 72- 83.
- Sell JL, Angel CR, Piquer F, Mallarino JEG, Al-Batshan HA (1991). Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poultry Science* 70: 1200- 1205.
- Sharma JM, Burmester BR (1984). Disease control in avian species by embryonal vaccination. U. S. Patent. Pat, No. 4,458,630.



- Shirley MW (1992). Research on avian coccidia: An update. *British Veterinary Journal*, 148: 479- 499.
- Sklan D (2001). Development of the digestive tract of poultry. *World's Poultry Science Journal*, 57: 415- 427.
- Smirnov A, Tako E, Ferket PR, Uni Z (2006). Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates, *Poultry Science*, 85: 669- 673.
- Smithers GW, Ballard FJ, Copeland AD, De Silva KJ, Dionysius DA, Francis GL, Goddard C, Grieve PA, McIntosh GH, Mitchell IR, Pearce RJ, Regester GO (1996). New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 79: 1454- 1459.
- Speake BK, Murray AMB, Noble RC (1998). Transport and transformation of yolk lipids during development of the avian embryo. *Progress in Lipid Research*, 37: 1- 32.
- Spreer E (1998). *Whey and Whey Utilization. Milk and Dairy Product Technology*. Marcel Dekker Inc, 407-421, New York.
- Stavric S, Gleeson TM, Blanchfield B, Pivnick H (1985). Competitive exclusion of salmonella from newly hatched chicks by mixtures of pure bacterial and caecal contents of adult birds. *Journal of Food Protection*, 48: 778- 782.
- Stavric S (1992). Defined cultures and prospects. *International Journal of Food Microbiology*, 55: 245- 263.
- Stavric S, Gleeson TM ve Blanchfield B (1991). Efficacy of Undefined And Defined Bacterial Treatment in Competitive Exclusion of *Salmonella* From Chicks. *Colonization Control of Human Bacterial Enteropathogens iIn Poultry*. Academic Press, San Diego, California, 323-330.

- Stavric S, Gleeson TM, Buchanan B, Blanchfield B (1992). Experience of the use of probiotics for *Salmonella* control in poultry. *Letters in Applied Microbiology*, 14: 69-71.
- Sunny NE (2008). Integrating macronutrient metabolism in developing chicken embryos. PhD Thesis, Dissertation submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland.
- Tako E, Ferket PR, Uni Z (2004). Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine, *Poultry Science*, 83: 2023- 2028.
- Tako E, Ferket PR, Uni Z (2005). Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestine functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15: 339- 346.
- Tamura Z (1983). Nutriology of Bifidobacteria. *Bifidobacteria and Microflora*, 2:3-16.
- Tokunaga T, Oku T ve Hosoya N (1986). Influence of chronic intake of new sweetener fructo-oligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*, 32: 111- 121.
- Turro I, Dunnington EA, Nitsan Z, Picard M, Siegel PB (1994). Effect of yolk sac removal at hatch on growth and feeding behavior in lines of chickens differing in body weight. *Growth, Development and Aging*, 58: 105- 112.
- Uni Z, Ganot S, Sklan D (1998). Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, 77: 75- 82.
- Uni Z, Geyra A, Ben-Hur H, Sklan D.(2000). Small intestinal development in the young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration. *British Poultry Science*, 41: 544- 551.

- Uni Z., Tako E, Gal-Garber O, Sklan D (2003a) Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Science*, 82: 1747- 1754.
- Uni Z, Tako E, Gal-Garber O, Sklan D (2003b). Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Science*, 82: 1747- 1754.
- Uni Z, Ferket PR (2004). Methods for early nutrition and their potential, *World's Poultry Science Journal*, 60: 101- 111.
- Uni Z, Ferket PR, Tako E ve Kedar O (2005). In Ovo Feeding Improves Energy Status of Late-Term Chicken Embryos, *Poultry Science*. 84: 764- 770.
- Uraz T (1981). *Peynir Suyu ve Değerlendirme Şekilleri. Süt ve Mamulleri Teknolojisi*, Segem, Yayın No:103, Ankara, 208-215.
- Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ (2003). Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. *Poultry Science*, 82: 1030- 1036
- Vuyst LD, Moreno MR, Revets H 2003. Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin resistance in *Enterococci* of different origins. *International Journal of Food Microbiology*, 84: 299- 318.
- Weber FH, Evans NA (2003). Immunization of broiler chicks by in ovo injection of *Eimeria tenella* sporozoites, sporocysts, or oocysts. *Poultry Science*, 82: 1701- 1707.
- Weber FH, Genteman KC, LeMay MA, Lewis DO, Evans NA (2004). Immunization of broiler chicks by in ovo injection of infective stages of *Eimeria*. *Poultry Science*, 83: 392- 399.

- Williams RB (1994). Safety of the attenuated anticoccidial vaccine 'Paracox' in broiler chickens isolated from extraneous coccidial infection. *Veterinary Research Communications*, 18: 189- 198.
- Williams C (2007). In Ovo Vaccination for Disease Prevention. *Int Poult Prod*, 15: 8- 9. [http://pfizerglobalpoultry.com/articles/Pfizer\\_15\\_8.pdf](http://pfizerglobalpoultry.com/articles/Pfizer_15_8.pdf). (erişim tarihi, 10.02.2012).
- Wineland MW, Christensen VL, Yildrum I, Fairchild BD, Mann KM ve Ort DT (2006). Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage in oxygen consumption affects intestinal maturation of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 5: 229- 240.
- Winter AR, Funk EM (1960). *Poultry, Science and Practice*. Lippincott Company, Chicago.
- Yamauchi KE, Kamisoyama H, Isshiki Y (1996). Effects of fasting and refeeding on structure of the intestinal villi and epithelial cells in white leghorn hens. *British Poultry Science*, 37: 909- 921.
- Yeung D, Oliver IT (1967). Gluconeogenesis from amino acids in neonatal rat liver. *Biochemical Journal*, 103: 744- 748.
- Yıldırım A (2002). Karma Yemlere Probiyotik, Prebiyotik ve Organik Asit İlavesinin Etlik Piliçlerin Performans, İnce Bağırsak ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkileri. Doktora Tezi, O.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Yörük MA, Gül M, Hayırlı A, Macit M (2004). The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poultry Science*, 83: 84- 88.
- Zhai W, Neuman S, Latour MA ve Hester PY (2008). The effect of in ovo injection of l-carnitine on hatchability of white leghorns. *Poultry Science*, 87: 569- 572.