



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAŞLI YUMURTA TAVUKLARININ
RASYONLARINA FARKLI SEVİYELERDE
İLAVE EDİLEN HUMİK ASİDİN VERİM
ÖZELLİKLERİ İLE FİZYOLOJİK
BAĞIŞIKLIK VE SİNDİRİM SİSTEMİ
SAĞLIĞINA ETKİLERİ**

DALYA HASHİM MOHAMMEDAMEN

DOKTORA TEZİ

Aralık-2024
KONYA
Her hakkı saklıdır.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

DALYA HASHIM MOHAMMEDAMEN

Tarih:

ÖZET

DOKTORA TEZİ

YAŞLI YUMURTA TAVUKLARININ RASYONLARINA FARKLI SEVİYELERDE İLAVE EDİLEN HUMİK ASİDİN VERİM ÖZELLİKLERİ İLE FİZYOLOJİK BAĞIŞIKLIK VE SİNDİRİM SİSTEMİ SAĞLIĞINA ETKİLERİ

DALYA HASHİM MOHAMMEDAMEN

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Sinan Sefa PARLAT

2024, 86 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Sinan Sefa PARLAT

Prof. Dr. Yusuf CUFADAR

Doç. Dr. Rabia GÖÇMEN

Dr. Öğr. Üyesi Turan AKDAĞ

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Ali KARA

Bu tez projesi; yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen leonardit bazlı hümik asidin verim parametreleri (yumurta verimi, yumurta kitlesi, yem tüketimi, yumurta ağırlığı, yem değerlendirme katsayısı), yumurta kabuk kalite özellikleri (yumurta kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı), ince bağırsak (duodenum) villus histomorfolojisi (villus genişliği, villus uzunluğu) ve serum immünoglobülin seviyelerine (*IgG*, *IgM*, *IgA*) etkilerini belirleyebilmek için yürütülmüştür. Araştırmada 72 haftalık yaşta toplam 240 adet Lohman hattı ticari yumurta tavuğu kullanılmıştır. Deneme 5 grupta gerçekleştirilmiştir. Deneme grupları 12 tekerrürlü olup, her bir tekerrürde 4 adet yumurta tavuğu bulunmaktadır (5 Grup x 12 Tekerrür x 4 Tavuk = 240 Tavuk). Denemede kullanılan bazal rasyon mısır – soya küspesi ağırlıklı olup, kontrol ve muamele gruplarına ait bütün rasyonlar izo-kalorik ve izo-nitrojenik olarak hazırlanmışlardır. Deneme her biri 28'er günlük 3 dönem halinde yürütülmüştür. Deneme süresinin toplam 84 gündür. Deneme çok katlı kafeste yürütülmüş, yem ve su ad-libitum sağlanmıştır. Denemede 16 saat ışık + 8 saat karanlık standart aydınlatma programı uygulanmış, ışık şiddeti 15 lüks olarak ayarlanmıştır. Denemede kullanılan leonardit bazlı sıvı hümik asit özel bir firmadan temin edilmiştir. Denemede, bazal rasyona sırasıyla dört farklı seviyede (%0.35, %0.45, %0.55 ve %0.65) hümik asit ilave edilmiştir. Bu çalışmada hümik asit içermeyen bazal rasyon grubu kontrol (Kontrol), farklı seviyelerde hümik asit içeren diğer dört grup ise (I: %0.35 hümik asit; II: %0.45 hümik asit; III: %0.55 hümik asit; IV: %0.65

hümik asit) muamele grupları olarak kabul edilmişlerdir. Deneme periyodu sonunda verim parametreleri (yumurta verimi, yumurta kitlesi, yem tüketimi, yumurta ağırlığı, yem değerlendirme katsayısı), yumurta kabuk kalite özellikleri (yumurta kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı), ince bağırsak (duodenum) villus histomorfolojisi (villus genişliği, villus uzunluğu) ve IgM dışında serum immünoglobülin seviyeleri (*IgG*, *IgA*) bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. IgM bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Kontrol grubu en yüksek IgM değerine sahip olup, IgM bakımından Kontrol grubu ile diğer bütün gruplar (I, II, III ve IV. gruplar) arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P<0,001$); I, III ve IV.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar önemsiz; II ve IV.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar önemli ($P<0,01$); I, II ve III.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar ise önemsiz bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hümik asit, yumurta tavuğu, yumurta kabuk kalitesi, villus, immünoglobülin

ABSTRACT

Ph.D THESIS

The Effects of Adding Different Levels of Humic Acid to the Rations of Old Laying Hens on Productive Properties, Physiological Immunity and Digestive System Health

DALYA HASHIM MOHAMMEDAMEN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK
UNIVERSITY**

**THE DEGREE OF MASTER OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE**

Advisor: Prof. Dr. Sinan Sefa PARLAT

2024, 86 Pages

Jury

Prof. Dr. Sinan Sefa PARLAT

Prof. Dr. Yusuf CUFADAR

Assoc. Prof. Dr. Rabia GÖÇMEN

Assist. Prof. Dr. Turan AKDAĞ

Assist. Prof. Dr. Muhammet Ali KARA

This experiment was carried out to determine the effects of leonardite-based humic acid added to the diets of old laying hens at different levels on productivity parameters (egg productivity, egg mass, feed consumption, egg weight, feed conversion ratio), egg shell quality traits (egg shell breaking resistance, egg shell weight, egg shell specific gravity, egg shell thickness and egg shell ratio), small intestine (duodenum) villus histomorphology (villus width, villus length) and serum immunoglobulin levels (IgG, IgM, IgA). A total of 240 Lohman line commercial laying hens at 72 weeks of age were used in this research. The experiment was carried out in 5 groups. The experimental groups had 12 replicates, and each replicate consisted of 4 laying hens (5 Groups x 12 Replications x 4 Hens = 240 Hens). The basal ration used in the experiment was mainly corn-soybean meal, and all rations belonging to the control and treatment groups were prepared as iso-caloric and iso-nitrogenous. The experiment was conducted in 3 periods of 28 days each. The experiment was lasted for 84 days. The experiment was conducted in a multi-storey cage, feed and water were provided ad-libitum. A standard lighting program of 16 hours light + 8 hours darkness was applied in the experiment, and the light intensity was set at 15 lux. The leonardite-based liquid humic acid used in the experiment was supplied by a private company. In the experiment, humic acid was added to the basal ration at four different levels (0.35%, 0.45%, 0.55% and 0.65%), respectively. In this study, the basal diet group without humic acid was accepted as control (Control) and the other four groups containing different levels of humic acid (I: 0.35% humic acid; II: 0.45%

humic acid; III: 0.55% humic acid; IV: 0.65% humic acid) were accepted as treatment groups. At the end of the trial period, the differences observed between the group means in terms of yield parameters (egg yield, egg mass, feed consumption, egg weight, feed conversion coefficient), egg shell quality characteristics (egg shell breaking resistance, egg shell weight, egg shell specific gravity, egg shell thickness and egg shell ratio), small intestine (*duodenum*) villus histomorphology (villus width, villus length) and serum immunoglobulin levels (IgG, IgA), except for IgM, were found to be statistically insignificant. The differences observed between the group means in terms of IgM were found to be statistically significant ($p < 0.01$). In terms of IgM, the differences between the Control group (having the highest IgM value) and all other groups (groups I, II, III and IV) were found to be statistically significant ($P < 0.01$); the differences between the means of groups I, III and IV were found to be insignificant; the differences between the means of groups II and IV were found to be significant ($P < 0.01$); and the differences between the means of groups I, II and III were found to be insignificant.

Keywords: Humic acid, laying hen, egg shell quality, villus, immunoglobulin

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Prof. Dr. Sinan Safa PARLAT'a, istatistiksel analizleri yürütülmesinde yardım ve katkılarını gördüğüm değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Fatma İLHAN'a, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen ve çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli ailem'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DALYA HASHIM MOHMMEDAMEN
KONYA-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Hümik asidin özelliği	12
2.2 Hümik asidin etkileri	14
2.3. Hümik maddelerin yapısal özellikleri	24
2.4. Hümik maddelerin mekanizması	27
2.4.1. Lignin teorisi	27
2.4.2. Polifenol teorisi	27
2.4.3. Şeker ve amin yoğunlaşması	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Hayvan materyali	21
3.1.2. Yem materyali	21
3.1.3. Hümik asit	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Bazal rasyonun hazırlanması ve deneme gruplarının oluşturulması	22
3.2.2. Verilerin toplanması	28
3.2.3. İmmünoğlobülin analizleri	29
3.2.4. İncebağırsak (<i>Duedonum</i>) mikrobiyolojik analizler	29
3.2.5 İnce bağırsak (<i>Duedonum</i>) histomorfolojik özelliklerin belirlenmesi	29
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	31
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	32
5.1. Performans Kriterleri	32
5.1.1 Yumurta verimi	32
5.1.2. Yumurta ağırlığı	34
5.1.3. Yem tüketimi	37

5.1.4. Yumurta kitlesi.....	39
5.1.4. Yem değerlendirme katsayısı.....	41
5.2. Yumurta kabuk kalite özellikleri	43
6. İNCEBAĞIRSAK (<i>DUEDONUM</i>) VİLLUS GENİŞLİĞİ VE VİLLUS UZUNLUĞU	45
7. İNCEBAĞIRSAK (<i>DUEDONUM</i>) İÇERİĞİNE AİT KALİTATİF MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER (<i>Coliform Spp, Salmonella Spp</i>).....	45
8. SERUM İMMÜNOGLOBÜLİN ANALİZLERİ	53
9. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR.....	60
EKLER.....	73
ÖZGEÇMİŞ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

YT :	Yem tüketimi
YK :	Yumurta kitlesi
YV:	Yumurta verimi
YDK:	Yem değerlendirme katsayısı
CA :	Canlı ağırlık
CAA :	Canlı ağırlık artışı
IG :	İmmüoglobülin
VY:	Villus yüksekliği
VG:	Villus genişliği

1. GİRİŞ

Ticari yumurta tavukçuluğunda temel ilke, verim dönemine göre standart ağırlıkta ve yeterli iç ve dış yumurta kabuk kalitesine sahip, mümkün olan en yüksek sayıda yumurta üretebilmektir. Bu kriterler başlangıç ve orta dönemlerde başarılabilir de geç-yaşlı dönemde (72 haftalık yaş ve sonrası) ne yazık ki pek başarılı olunamamaktadır. Zira, uzun süre yüksek performans gösteren ticari yumurta tavukları, yaşlı dönemde gerek fizyolojik, metabolik, endokrinolojik, immünolojik sorunlar ve gerekse yumurta büyüklüğünün artmasına bağlı olarak hem yumurta veriminde hem de kaliteli yumurta üretiminde gerilemeler yaşamaktadırlar. Bu geç dönemde anılan sorunların kısmen de olsa giderilebilmesi için farklı manejman uygulamalarının yanı sıra çeşitli rasyon modifikasyonları yapılmakta, pek çok yem katkı maddesi kullanılmaktadır (Abdou, 1993; Atasoy ve ark., 2001). Yaşlı yumurta tavuklarında verim, sağlık ve kalite konularında yaşanan sorunlar önemli ölçüde sindirim sistemi ve immünolojik orijinli olup, bu sorunların giderilebilmesi -en azından minimize edilebilmesi- için her iki faktörün de birlikte irdelenmesi son derece önemlidir. Her iki temel sorunun çözümüne yönelik, yaşlı ticari yumurta tavuğu rasyonlarına pek çok yem katkı maddesi ilave edilmekte, kısmen olumlu sonuçlar alınmaktadır. Ancak, bu konuda en önemli handikap sürdürülebilirlik, maliyet ve palyatif olmayan çözüm uygulamalarıdır (Onbaşlar ve Aksoy, 2005; Yalçın ve ark., 2014; Yalcin ve ark., 2016).

İnce bağırsağın histo-morfolojik özellikleri ve serum immün globülinlerin çeşit ve miktarları kanatlı sindirim sistemi ve doğal bağışıklığın en önemli indikatörleridir. Bunların fizyolojik olarak kabul edilebilir seviyelere kavuşturulması sağlıklı, kaliteli ve yüksek yumurta veriminin sağlanmasında önemli kilometre taşlarıdır. Yaşlı ticari yumurta tavuklarının yumurta hacmi ve ağırlığı genç hayvanlara göre daha yüksektir. Yaşlı yumurta tavuklarında, yaşa bağlı olarak, ovüle edilecek graaf folikül büyüdüğü için yumurta büyüklüğü ve kabuk yüzey alanı da artmakta, yetersiz yumurta kabuk kalsifikasyonu sonucu kırık ve çatlak yumurta üretimi yükselmektedir (Rizzi ve Chiericato, 2005; Zita ve ark., 2009). Yaşlı yumurta tavuklarında lipopolisakkarit (LPS) üretebilen gram negatif patojenlerin kolonizasyonlarında ciddi artışlar olmaktadır. Zira, yaşlanmaya bağlı olarak proventrikulus (bezli mide) orijinli hidroklorik asit (HCl) salgısının azalması ve besin madde sindiriminin düşmesi sonucu patojen mikroorganizma popülasyonunda önemli artışlar olmaktadır. Bu durumda sindirim sistemi orijinli endotoksin

seviyesi artmakta, bağırsakların seçici geçirgenlik özellikleri gerilemektedir. Buna bağlı olarak hücrel ve humoral bağışıklık sistemi patojen istilası karşısında yetersiz kalmaktadır (Zhu ve ark., 2019). Bu durum ticari yumurta tavuğu üreticilerini ekonomik olarak sıkıntıya sokabilmektedir. Yaşlı dönemde yaşanan bu sorunların çözülebilmesi için vitamin – mineral katkıları, bitkisel ekstraktlar, eksojen enzimler, probiyotik, prebiyotik, amino asit, organik asit ilavesi gibi çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Son zamanlarda değinilen bu sorunların çözümüne yönelik olarak farklı humat kaynakları da kullanılmaya başlanmıştır (Pandey ve ark., 1999; Eleroğlu ve ark., 2014).

Kanatlı hayvanların rasyonlarına hümik asit ilavesi sindirim ve bağışıklık sistemlerini destekleyerek, onların hastalıklara karşı dirençlerini artırır, besin madde sindirilebilirliğini yükseltir (Kreutz ve Schlikekewey, 1992). Hümik asit kullanımı aynı zamanda sindirim sisteminde anyon – katyon dengesini sağlayarak sindirim enzimlerinin etkinliğini ve mineral absorpsiyonunu artırır (Parks ve ark., 1996). Hümik asit, sindirim sisteminin pH'sını dengeleyerek patojenlere ve enfeksiyonlara karşı doğal bir koruma sağlamaktadır (Rath ve ark., 2005; Ghasemi ve ark., 2014; Sultan ve ark., 2015). Hümik asidin yemlerde bulunan çeşitli mikotoksinleri bağlayabilme özellikleri bulunmaktadır. Bu özellikleri sayesinde mikotoksin kaynaklı sağlık sorunlarını bir dereceye kadar önleyebilir. Keza, hümik asit mantar gelişimini baskılayabilme özelliği sayesinde mikotoksin oluşumunu da azaltabilmektedir (Riede ve ark., 1991). Hümik asit sindirim sistemi içeriğinin viskozitesini ayarlayarak ishal vakalarını önleyebilmektedir (Mayhew, 2004; Islam ve ark., 2005).

Bu tez projesi; yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen leonardid bazlı hümik asidin (Bazal rasyona %0,35; %0,45, %0,55; %0,65 hümik asit ilave edilmiştir.) verim parametreleri (yumurta verimi, yumurta kitlesi, yem tüketimi, yumurta ağırlığı, yem değerlendirme katsayısı), yumurta kabuk kalite özellikleri (yumurta kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı), ince bağırsak (duodenum; onikiparmak bağırsağı) villus histomorfolojisi (villus genişliği, villus uzunluğu) ve serum immünoglobülin seviyelerine (IgG, IgM, IgA) etkilerini belirlemek için yürütülmüştür.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Hümik asidin özelliği

Hümik asit kavramı, genel bir isim olup, çatı – şemsiye görevi üstlenmektedir. Yani, bu isim altında pek çok alt unsur bulunmaktadır. Öte yandan, gerçekte bu alt unsurların herhangi bir asit grubuyla (organik asit, mineral asit gibi) doğrudan bir benzerliği bulunmamaktadır.

Hümik asit Latince *humus* kelimesinden orijin almakta olup, ortam pH'sını düzenleyebilme ve yüksek anyon – katyon kapasiteleri sayesinde ortamdaki organik maddeleri mikroorganizma ve bitkiler için doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılabilen formlara indirgenebilmelerini sağladıkları için bu isimle anılmaktadırlar. Genel olarak hümik asit, jeolojik bakımdan yerkürenin üst katmanlarında bulunmakta olup, toprak tabakası ile yakın ilişkilidir.

Hümik asidin yapısı fiziksel, iklimsel ve biyolojik faktörlere bağlı olarak değişim gösterebilir (Burdon, 2001; Davies ve ark., 2001). Hümik asit alkali karakterde çözdürülebilir humus bileşenlerini temsil eder (Gaffney ve ark., 1996). Hümik asidin bünyesi yüksek oranda karbondan oluşmakta olup, linyit ve kömür madenleriyle yakından ilişkilidir (Farrimond, 1994).

Humat terimi hümik asidin sodyum, potasyum ve kalsiyum elementleri ile oluşturduğu tuzları ifade etmek için kullanılır. Humatlar hafif alkali ortamlarda yüksek çözünme özelliğine sahiptirler (Andrews Jr ve Mcdaniels, 1970).

Hümik asitler toprağın solunum ve su tutma kapasitesini artırarak toprak tekstürünü iyileştirirler. Topraktaki mikroorganizma popülasyonunun gelişimini teşvik ederler. Topraktaki minerallerin bio yararışlılığını artırır (Gaffney ve ark., 1996). Hümik asitler bitkisel üretimde uzun süredir kullanılmaktadırlar. Özellikle, bitkilerin kök gelişimini hızlandırarak büyüme ve bağışıklığa katkı sağlarlar (Crawford ve ark., 1968; Kelting ve ark., 1998; Hamman ve ark., 1999).

Hümik asitlerin biyolojik etkinlikleri polikarboksilik asitlere ve polifenollere dayanmaktadır (Reichrath ve ark., 2007; González ve ark., 2008).

Hümik asidin kimyasal özellikleri aromatik hidrokarbonlar ve fenolik unsurlarla ilgilidir. (Wershaw ve ark., 1977). Bazı hümik asit türevlerinde bunlara ilaveten hidroksil, karbonil, kinonil, heterosiklik karbon halkaları gibi farklı kimyasal grupları da içerirler (García ve ark., 2020; Liu ve ark., 2020).

Hümik asit karboksilik ve aromatik bileşenlerden oluşur, aromatik halkaların veya yan zincirlerin oksidasyonu, ardından gerçekleşen halojenleme işlemi, klorlu alifatik yan ürünlerin oluşumuna neden olmaktadır (Seeger, 1984; De Leer ve ark., 1985).

Hümik asit çeşitli metal iyonlarıyla şelat kompleksleri oluşturabilme yeteneğine sahiptir (Stevenson, 1982).

Hümik asit bileşenleri, daha yüksek moleküler ağırlığa sahip molekülleri oluşturmak için düşük moleküler ağırlığa sahip bileşenlerle birleşirler (Kujawinski ve ark., 2002).

Toprakta doğal su kaynaklarının bulunması, hayvan ve bitki kalıntılarının ayrışması yoluyla oluşur (Son ve ark., 2019; Du ve ark., 2020).

Hümik asit, çok karmaşık bir yapıya sahip olduğu için çeşitli biyolojik aktiviteye sahiptir. Humat toprakta her zaman bulunabilir ve demir, potasyum, magnezyum ve alüminyum ile reaksiyona girer (Freter ve ark., 1983).

Hümik asitler, fulvik, ulmik asitler ve fenol, karbonhidrat ve amino asitler hidrokarbon ile bağlanır (Macit ve ark., 2009). "Humat" terimi, Na, K ve N elementleri ile birlikte hümik asitlerin oluşturduğu tuzları ifade eder (Eren, 2000; Kucukersan ve ark., 2005a).

Organik karbonun en yaygın doğal formu hümik asittir. Topraktaki organik maddelerden farklıdır. Canlı, ölü veya çürümüş hayvanlarla birlikte bulunabilir (Schuhmacher ve Gropp, 2000; Islam ve ark., 2005).

Ayrıca, bu karbon bileşenleri mikrofloranın kolonileşmesi için gerekli bir ortam sağlar. Çözünmeyen $Ca_3(PO_4)_2$ elde edilen P ile Fe ve çözünmeyen $Fe_2(PO_4)_3$ den sağlanan P, bakteriler tarafından enzimatik yollarla üretilir (Ay, 2015).

Bakteriler bir protein ve aminoasit kaynağı olabilir çünkü diyetteki nitrojenin bir kısmı bakteriyeli hücre proteinine dahil edilebilir (Metges, 2000).

Humatın yüzde otuz ila elli oranında hümik asit bulunur. pH değeri 5 ile 7 arasında olup, zengin besin maddeleri içeren ve %30 ila %50 arasında nem barındıran bir yapıya sahiptir. Kurutma işlemiyle birlikte nem oranı %10 ila %15 seviyesine kadar düşürülür (Şahin, 2003).

Hümik asit, siyah madde ile koyu kahverengi bir madde arasındadır. Bu madde asitte çözünmezken alkalide çözünür. Karbon içeriği %58'dir. Himatomilelanik asitler, alkaliler tarafından hümik asitlerin parçalanmasının bir sonucudur. Hümik asit, bu maddeyi çikolata kahverengidir. Karbon içeriği yaklaşık %62'dir. Krenik, apokrenik ve fulvik asitler sarı ve kahverengidir (Odén, 1914; Oden, 1919).

Humat grubu organik bileşikler saf olmayıp, bileşimleri elde edildikleri hammaddeye, uygulanan kimyasal prosedüre, depolama şartlarına göre önemli değişiklikler gösterebilmektedir. Bu nedenle, birbirlerinden oldukça farklı biyolojik etkinliğe sahip olabilirler (Hurnik ve ark., 1977; Roland Sr, 1979).

2.2. Hümik asidin etkileri

Hayvan beslemede büyütme amaçlı antibiyotiklerin önemli ölçüde yasaklanmasından sonra araştırmacılar antibiyotiklere alternatif olabilecek farklı yem katkı maddeleri üzerinde yoğun olarak çalışmaktadırlar. Bu konuda organik asitler, baharat ve bitkisel ekstraktların yanı sıra organik orijinli fonksiyonel katkı maddelerinin de kullanılabilirliğine yönelik inovatif çalışmalar yapılmaktadır.

Konuyla ilgili olarak üzerinde durulan organik kaynaklardan birisi de hümik asitlerdir. Hümik asit özellikle sindirim sistemi sağlığı ve simbiyotik mikrobiyotan desteklenmesi bakımından yeni nesil yem katkı maddesi olarak önemli bir potansiyele sahip gibi gözükmemektedir (Kreutz ve Schlikekewey, 1992).

Hayvancılıkta hümik asit uygulaması ilk olarak ishal ve bazı sindirim sorunlarını tedavi edebilmek için geliştirilen bazı yemlik preparatların hazırlanmasıyla başlamıştır (Kühnert ve ark., 1989; Lenk ve Benda, 1989; Kühnert ve ark., 1991).

Hümik asit, farklı yollardan bağışıklık sistemini güçlendirerek hayvanların hastalıklara karşı dirençlerini artırabilme potansiyeline sahiptir. Hümik asit anyon – katyon dengesini düzenleyebildiği için sindirim sisteminde elektrolit dengesini koruyarak sindirim fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyebilmektedir (Parks ve ark., 1996). Keza, hümik asit gastrointestinal sistemin pH'sını stabilize ederek bakteriyel enfeksiyonlara karşı da koruma sağlayabilmektedir (Rath ve ark., 2005).

Topraktaki organik bir ayrışma ürünü olan hümik asit, bünyesinde farklı organik bileşikleri de içerebilmektedir (humus, fulvik asit, humin vb) (Arif ve ark., 2019).

Organik ve fonksiyonel özellikleriyle dikkat çeken hümik asit, bitkilerde olduğu gibi, hayvancılıkta da önemli kullanım potansiyeline sahip gibi gözükmektedir. Nitekim, toksik ve teratojenik olmadığı için hayvan besleme sahasında denemelerine başlanmıştır, ayrıca hayvan sağlığını korumaya yönelik olarak, hümik asidin doğal bağışıklık güçlendirici, elektrolit dengesi düzenleyici, sindirim sistemi stabilizatörü, patojen baskılayıcı gibi özellikleriyle ilgili araştırmalar yapılmaktadır (EMEA, 1999).

Kanatlı rasyonlarına hem hayvan sağlığını hem de büyüme özelliklerini iyileştirebilmek amacıyla farklı hümik asit çeşit ve dozlarına ilişkin çok yönlü çalışmalar yürütülmektedir (Shermer ve ark., 1998).

Farklı yaş ve ticari yumurta tavuğu hatlarında, değişik hümik asit kaynakları ve seviyeleri kullanılarak, performans ve sağlık üzerine çeşitli araştırmalar yürütülmüştür (Yörük ve ark., 2004a; Kucukersan ve ark., 2005a).

(Korsakov ve ark., 2018) kanatlıların rasyonlarına hümik asit eklendiğinde verim özelliklerini ve yumurta kabuk kalitesini artırdığını, aynı zamanda mantar gelişimini de baskıladığını bildirmişlerdir.

Konuya ilişkin olarak hümik asidin kanatlı hayvanlarda kan biyokimyasal parametrelerine, bağırsak sağlığına, ürün kalitesi ve performans üzerine etkileriyle ilgili değişik çalışmalar yapılmıştır (Karaoglu ve ark., 2004; Ipek ve ark., 2008; Öztürk, 2012).

(Riede ve ark., 1991) deney hayvanlarıyla ilgili yürüttükleri çalışmalarında hümik asidin bazı patojen mikroorganizmalara karşı inhibitör etkise sahip olduklarını bildirmişlerdir. Hümik asidin mantar gelişimini baskıladığı için yemlerde önemli bir sorun olan mikotoksin seviyelerinin düşürülmesinde etkili bir ajan olabileceği bildirilmiştir.

Hayvancılık sahasında hümik asidin öne çıkan faydaları arasında; bağışıklık sistemini güçlendirmesi (Loddi ve ark., 2002; Hooge, 2004), anti-enflamatuar etkiye sahip olması (Yang ve ark., 1996), antiviral özellik gösterme gibi özellikleri öne çıkmaktadır (Huck ve ark., 1991).

Hümik asit farklı kanatlı türlerinde bağışıklığın güçlendirilmesi, sindirim sistemi fizyolojisinin düzenlenmesinde ve özellikle ishalin önlenmesinde önemli roller oynamaktadır (Mayhew, 2004; Islam ve ark., 2005).

Hümik asidin büyütme amaçlı antibiyotiklere karşı alternatif olabilecek doğal bir organik madde olduğu, hayvansal ürünlerde herhangi bir kalıntı bırakmadan sağlıklı ürünlerin üretilmesine imkân sağlayan ucuz ve erişimi kolay bir uygulama olduğu bildirilmiştir (Griggs ve Jacob, 2005; Abd El-Hack ve Alagawany, 2015; Dhama ve ark., 2015; Abdi ve ark., 2018; Alagawany ve ark., 2018).

Hümik asitlerin, diğer organik asitlerle birlikte sindirim sisteminde pH'ı düşürerek enzimatik protein sindirimini etkilediği, mikroorganizma popülasyonunu kontrol altında tuttuğu ve yemden yararlanma ve yumurta kalitesini artırdığı bildirilmiştir (Thompson ve Hinton, 1997; Islam ve ark., 2005; Çelikkilek ve ark., 2014; Ghasemi ve ark., 2014; Sultan ve ark., 2015).

Arpášová ve ark. (2016) humat grubu bileşenlerden hümik asit, humus, ulmik asit ve fulvik asitlerin kanatlılarda büyütme amaçlı antibiyotiklere alternatif olabilme potansiyeline sahip olduğunu, bu amaçla kanatlı rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen bu grup bileşiklerin yem

tüketimini, yumurta verimini, yumurta ağırlığını, yumurta kitlesini ve yaşama gücünü iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

Büyütme amaçlı antibiyotiklerin zararlı etkilerinden dolayı, bitki ekstraktları ve hümik asitler gibi organik asitler de alternatif yem katkı maddeleri olarak antibiyotiklerin yerini almaya aday önemli bir bileşiktir (Yeşilbağ ve Çolpan, 2003).

Hümik asitler, kanatlıların yemlerinde mikroorganizmaları kontrol etmek ve küfleri korumak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Carrique-Mas ve ark., 2007). Küflere neden olan patojenik bakterilerin büyümesini engelleyerek mikotoksin düzeylerini düşürerek bağırsak sağlığını iyileştirmekte ve E. Coli gibi patojenlere karşı savunmalarını güçlendirmektedir (Tech, 2004).

Partanen ve Mroz (1999) hümik asidin sindirim sisteminin histomorfolojisini etkilediğini villus uzunluğunu ve sıklığını artırarak besin maddelerinin absorpsiyon kapasitelerini yükselttiğini bildirmişlerdir.

Stepchenko ve ark. (1991) tavuklarda rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen hümik asidin patojenlerden kaynaklanan hastalık ve ölüm oranlarını önemli seviyede azalttığını bildirmişlerdir.

Riede ve ark. (1991) hümik asidin sadece ishal önleyici, bağışıklık uyarıcı, pH düzenleyici bir bileşik olmayıp bunlara ilaveten *Enterobacter cloacae*, *Salmonella typhimurium* gibi patojenlerin çoğalmasını da durdurduğunu rapor etmiştir.

Hümik asit deney hayvanlarında incebağırsak mikrobiyotasını, villus gelişimini teşvik etmiş, ayrıca kalsiyum metabolizmasını da olumlu yönde etkilemiştir (Hayakawa ve Nonomura, 1987). Bunların dışında farklı türlerde ve değişik hümik asit doz ve orijin çalışmalarında hümik asidin karaciğerdeki aflatoksin birikimini azalttığı, bünyesindeki fenolik bileşikler sayesinde antioksidan etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Banaszkiewicz ve Drobnik, 1994; Rath ve ark., 2006; Ipek ve ark., 2008).

Hümik asit simbiyotik mikroorganizmaların gelişimini teşvik ederken, patojen nitelikteki mikroorganizmaların aksiyonlarını baskılayarak, hayvan sağlığının korunmasına yönelik çeşitli avantajlar sağlayabilmektedir (Mosley, 1996; Islam ve ark., 2005).

Islam ve ark. (2005) hümik asidin incebağırsakta ideal bir pH oluşturarak hem patojen gelişimini baskıladığını hem de kalsiyum ve bazı iz minerallerin bio yararlanılabilirliğini artırdığını rapor etmişlerdir.

Yumurta tavukçuluğunda karlılığın etkileyen faktörler arasında kalite özellikleri oranının önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Okoli ve Udedibie, 2000; Yörük ve ark., 2004a; Rajkumar ve ark., 2009).

Yumurta tavukçuluğunda kırık ve çatlak yumurtaların artması en önemli sorunlardan biridir. Yumurta kabuğu kalitesi, yaş, yumurtlama zamanı, hastalıklar, çevresel faktörler ve beslenme gibi birçok faktör bu durumda ekonomik kayıplara neden olur. Kabuk kırıklıkları nedeniyle satılmayan yumurtaların oranı yüzde altı ila on arasında değişmektedir (Çetin ve Gürcan, 2006).

Tüketiciler ve üreticiler, yumurtanın kabuğunun kalitesine büyük önem vermektedir. Kabuk kalitesinin kötüleşmesi nedeniyle kırık oranının artması mikrobiyal bulaşmayı artırır ve yumurtanın besin değerini azaltır (Tabib ve Onbaşlar, 2019).

Hümik asit gibi yem katkı maddeleri kanatlı yemlerine son zamanlarda dahil edildi (Patten ve Waldroup, 1988; Bailey ve ark., 1996; Gama ve ark., 2000; Ceylan ve ark., 2003).

Hümik asit eklenmesi, yumurta tavuklarının rasyonlarında yumurta veriminde ve ağırlığında artış sağlarken, yumurta kabuklarının kalitesini de yükseltmiştir (Shermer ve ark., 1998; Wang ve ark., 2006; Soltan, 2008).

Yumurta tavuklarında kabuk kalınlığı, yumurta özgül ağırlığı, kabuk ağırlığı ve yumurta ağırlıkları arasında önemli korelasyonlar bulunmaktadır (Tyler ve Geake, 1964; Hamilton, 1982). Dolayısıyla, bu kriterlerin düzeltilmesiyle ilgili yapılacak uygulamalar son derece önemli olup, hümik asit bu konuda önemli bir kullanım potansiyeline sahiptir. Nitekim farklı seviyelerde yumurta tavuğu rasyonlarına ilave edilen hümik asit yumurta verimini ve yumurta ağırlığını artırmış, yumurta muhafaza süresinin önemli iç kalite unsurlarından olan Hugh birimini önemli

seviyede yükseltmiştir (Hayirli ve ark., 2005; Kucukersan ve ark., 2005a; Maysa ve Sheikh, 2008; Dobrzański ve ark., 2009; Ergin ve ark., 2009).

Yumurta tavuğu rasyonlarına %0.10 ve %0.20 seviyelerinde hümik asit eklemenin, hümik asit içermeyen kontrol grubuna kıyasla özeliğinde düzenli bir artışa ve yem tüketiminde iyileşmeye, ancak yumurta kalitesinde herhangi bir iyileşme gözlemlenmediği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2020).

Yumurta tavuğu rasyonlarına ilave edilen hümik asidin verim özelliklerini etkilemeksizin yumurta kolesterol içeriğini düşürdüğü bildirilmiştir (Tancho, 1999).

Kara ve ark., (2012) bıldırcın rasyonlarına %0,50 seviyesinde ilave edilen hümik asidin canlı ağırlık ve yemden yararlanmayı artırdığı, karkas ağırlığı ve karkas randımanını yükselttiğini bildirmişlerdir.

Naukarinen ve Hippeläinen (1989) timüs ve bursal folikülün gibi içsel bağışıklık sistemi organlarını uyaran, antijenlere karşı yeterli ve etkili antikor üretimini teşvik eden, lenfositlerin aktivitelerini artıran unsurların iyi bir immünostimülatör olabileceğini bildirmişlerdir. Bu yönlerden irdelendiğinde hümik asit bu şartları sağlayan etkili bir bağışıklık destekleyicisi gibi gözükmektedir.

İmmunoglobulinler kanatlılarda bursal folikülde üretilirler. Bunlar glikoprotein yapısındaki kompleks moleküller olup, doğal bağışıklığın en önemli unsurlarındandırlar. İmmünoglobülinlerin IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE gibi farklı alt grupları bulunmaktadır (Sarı ve Kurtdede, 2006).

Bağışıklık türlerinde olduğu gibi kanatlı hayvanlarda da makrofajlar, T ve B lenfositler bağışıklık sisteminin önemli unsurlarıdır. Lenfositler mukozal lenfoid kanallarda görev yaparlar ve özellikle sindirim sisteminden bulaşabilecek patojenlere karşı oldukça etkilidirler (Panda ve Reddy, 2007).

Sindirim sistemindeki mukozal bağışıklık sistemi patojen girişine karşı ilk bariyeri oluşturduğu için hayvanın sağlığının korunması bakımından son derece önemlidir (Lamichhane ve ark., 2014). Mukozal bağışıklık unsurlarının sentez ve salgılanmaları çok hızlı olup, mukozal

epitelyum boyunca kısa sürede taşınabilirler (Withanage ve ark., 1997; Nicholson, 2016; Sathe ve Cusick, 2020).

IgA, fagositlerin olmadığı bölgelerde patojenlerin adhezyonunu engellerler. Kan ve hücre dışı sıvılarda IgG (IgY) fagositozu uyararak patojenlerin yok edilmesini sağlar (Pavot ve ark., 2012).

Parks ve ark. (1986) yüksek anyon – kation değişim kapasitesine sahip olan hümik asidin elektrolit dengesizliğini gidererek bağışıklık parametrelerini iyileştirdiklerini bildirmişlerdir.

Hümik asidin farklı virüs tiplerine karşı antiviral etkiler gösterebildikleri bildirilmiştir (Rath ve ark., 2005; Arpášová ve ark., 2016; Arif ve ark., 2019).

Hümik asitler bağışıklık sisteminin temel unsurları olan lenfositleri, antikorları, T-hücrelerini ve makrofajları aktive ederek, interferon alfa, interferon beta, interferon-gama ve sitokin üretimini uyarırlar (Trofimova ve ark., 2021).

Hümik asitler, virüslerin hücresele reseptörlere (alıcılara) yapışmasını engeller. Enfeksiyona uğramış T hücreleri ve monosit hücre hatlarında HIV-1 hümik asitler tarafından etkili bir şekilde engellenebilmektedir (Laub, 2000).

Hümik asit patojen mikroorganizmalara karşı enterositlerde bulunan bağışıklık reseptörlerini uyararak bağışıklık hücrelerinin fagositik aktivitelerini artırır (Huck ve ark., 1991).

Yarkova (2011) hümik asidin *in vitro* koşullarda *E. coli* ve *Salmonella enteritidis* kolonizasyonunu azalttığını bildirmiştir.

Kanatlı hayvanların incebağırsağında bulunan simbiyotik mikroorganizmalar enterositlerin epitel duvarlarına tutunarak patojenlere karşı doğal bir bariyer oluşturmaktadırlar (Yegani ve Korver, 2008).

Bir hayvanın sindirim sisteminde patojen mikroflora arttıkça bağırsak mukozal sisteminin bütünlüğünün korunması tehlikeye girer (Abdelqader ve ark., 2013).

Kanatlı sindirim sisteminin mikroflorası; sindirimi artıran, bağışıklık sistemini uyaran ve patojen gelişimini baskılayan simbiyotik mikroorganizmalardan oluşması gerekir (Nurmi ve Rantala, 1973; Coates, 1980; Fuller, 1984; Mead, 1989; Salminen ve ark., 1998).

Sindirim sisteminde besin maddelerinin sindirilebilirlikleri sindirim sisteminin fonksiyonuna, pH durumuna, elektrolit dengesine, simbiyotik mikroorganizmaların aksiyonuna ve patojen – toksin varlığına göre değişir (Islam ve ark., 2008). Bu durum dikkate alındığında hümik asidin sahip olduğu özellikler sayesinde ideal bir yem katkı maddesi olabileceği söylenebilir.

Hümik asit sindirim sistemindeki simbiyotik mikroorganizmaların gelişimini ve çoğalmasını teşvik eder. Sindirim sisteminin bütünlüğünün bozulması ve bağırsakta anormal patojen mikrofloranın oluşması, hem hayvan sağlığı hem de verim parametrelerinin düşmesi bakımından son derece önemlidir (Gaskins ve ark., 2002).

Hümik asit tarafından gelişim ve çoğalması teşvik edilen simbiyotik mikroorganizmalar, patojenlere karşı koruma sağladıkları gibi sindirim etkinliğini artırarak ve bazı organik asitleri (laktik asit) ve antimikrobiyal bileşikleri (örneğin bakteriyosinler) üreterek konak hayvana destek sağlarlar (Jeurissen ve ark., 2002; Apajalahti, 2005; Yegani ve Korver, 2008).

Hümik asit bağırsak vasıtasıyla su kaybını önleyerek sindirim sisteminin stabil kalmasını sağlar. Ayrıca, sindirim sisteminde bulunan gram negatif patojenlerce salgılanan lipopolisakkarit (LPS) gibi toksinlerin kan dolaşımına girmesine engel olur (Gancarčíková ve ark., 2019; Hriciková ve ark., 2023).

Çelebi (2019) hümik asidin bağırsak mukozasını koruyucu etkilere sahip olduğunu, aynı zamanda toksin adsorbe edebilme yeteneğinin de olduğunu bildirmiştir.

Hümik asitler antiseptik ve fungusit özelliğe sahiptirler. Diyetlere ilave edildiklerinde toksin oluşumuna karşı koruma sağlarlar. Bazı hümat grubu bileşikler antimikrobiyal etkiler gösterebilmektedirler. *Enterobacter cloacae* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı inhibitör etkiler göstermişlerdir (Riede ve ark., 1991).

Ansorg ve Rochus (1978) hümik asidin *Salmonella spp*, *Stafilokok spp*, *Streptomises spp*, *Proteus spp*, *Enterokokkus spp* *Psödomonas spp* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmalar karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmiştir.

Yemlere organik asitler eklendiğinde sindirim kanalı pHs'ındaki düşüş, enzim aktivitesinin artmasına ve zararlı mikroorganizma sayısının azalmasına neden olur (Vanderwal, 1979). Kanatlı yemlerini küf ve diğer mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak kullanmaktadır (Üstündağ ve Özdoğan, 2017). Yemleri mikroplardan korumak ve gastrik fermantasyonu düşürerek mide asitliğini artırmaktır. Yem ile karıştırıldığında, organik asitler antibakteriyel özelliklere sahiptirler ve bu da sindirim sisteminde patojen bakterilerin büyümesini önler (Makkink, 2001).

Hümik asit sindirim sisteminde detoksifiye edici etkilere sahiptir. Diyete hümik asit eklendiğinde ağır metaller, nitratlar, florür, organofosfat, klorür ve bazı mikrobiyal toksinleri adsorbe ederek dışkıyla birlikte atılmalarını sağlar. Bunların yanı sıra, hümik asit patojenlere karşı bağırsaktaki bağışıklık reseptörlerini uyararak doğal bağışıklığı güçlendirir ve iltihap (enflamasyon) oluşumunu engeller (Bailey ve ark., 1996; Parks ve ark., 1996; Kocabağlı ve ark., 2002; Karaoglu ve ark., 2004).

Hümik asit patojen mikroorganizmaları karbonhidrat ve protein metabolizmalarını etkileyerek onların gelişim ve çoğalmalarını baskı altına alır (Rath ve ark., 2005; Arpášová ve ark., 2016).

Hümik asit, bağırsakta koruyucu bir filim oluşturduğu için enfeksiyonlara ve bakteriyel toksikasyonlara karşı koruyucu etkiye sahiptir. Hümik asit aynı zamanda patojen mikroorganizmaların protein ve karbonhidrat metabolizmasını katalitik yollarla engelleme kabiliyetine de sahiptir (Huck ve ark., 1991).

Hümik asit mikotoksinlerin seviyesini azaltır küflere ve patojen bakterilere karşı koruyucu etkiye sahiptir ve bağırsak sağlığının korunmasına yardımcı olur. Hümik asit bağırsak ve mide mukozası üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu için patojen mikroorganizmaların bazı toksin

ve metabolitlerinin portal sirkülasyona absorpsiyonlarını engeller. Ayrıca bağırsak yoluyla aşırı su kaybını da durdurarak dehidrasyonu önler. Bu özelliklerinin yanı sıra yemlerde mantar gelişimini inhibe ederek mikotoksinlere karşı koruma sağlarlar (Arafat ve Khan, 2017; Simakova ve ark., 2021).

Hüyük asit sindirim kanalında sindirilmemiş besinlerin patojen mikroorganizmalar tarafından fermentasyonunu engelleyerek dolaylı da olsa hayvan sağlığına olumlu katkılarda bulunabilir (Maguey-González ve ark., 2022).

Hüyük asit kanatlı hayvanlarda sindirim sistemi epitel hücreleri tarafından inaktive formlarda salgılanan sindirim enzimlerinin aktivasyonlarının sağlanmasıda önemli rol oynar (pH düzenleyici fonksiyonlarının bulunması dolayısıyla) (Lala ve ark., 2017; Mao, 2019).

Sindirim sisteminde bulunan mikrobiyota lüminal mikrobiyota ve mikosal mikrobiyota olarak sınıflandırılmaktadır. Lüminal mikrobiyota antimikrobiyal maddenin olduğu ve yeme geçiş hızı ile belirlenmektedir. Mukozal mikrobiyota kompozisyonu ise birkaç faktörden etkilenmektedir. İmmüoglobulinlerinin salgılanması, bağırsakta mukus üretim oranı ve enterosit membrane yapışma yerlerinden etkilenmektedir (Jeurissen ve ark., 2002).

Hüyük asidin sindirim sisteminin mukozal yüzeyinde gözlemlenen faydalarının yanı sıra diğer epitel dokular üzerinde de iyileştirici ve koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (Goel ve Dhingra, 2021). (Laub, 2000) hüyük asidin bazı virüslere karşı antiviral etki gösterdiğini bildirmiştir.

Etlik piliçlerde aflatoksinle kontamine olan yemlere hüyük asit ilave edildiğinde, hüyük asit aflatoksinin sebep olduğu toksikasyonları azaltmış, bursa fabrikus, dalak, karaciğer hasarını düşürmüş, mide ve kalp büyümesine karşı koruyucu etki göstermiştir. Bunların yanı sıra, aflatoksin toksisitesi ile ilişkili bazı hematolojik ve serum biyokimyasal değerlerinde (serum AST, β -glutamil transferaz ve laktat dehidrojenaz) azalma gözlemlenmiştir (van Rensburg ve ark., 2006; Ghahri ve ark., 2010).

Ball (2000) antibiyotiklerin büyüme amaçlı yem katkısı olarak kullanılmasının yasaklanmasından sonra hümik asidin antibiyotiklere alternatif olarak kanatlı rasyonlarında büyüme teşvik edici olarak önemli bir kullanım potansiyeline sahip olduğunu bildirmiştir.

Toksik metabolit maddelerin emilimini azaltır veya engeller. Çünkü bağırsak ve mide mukozası üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. Ayrıca bağırsak yoluyla aşırı su kaybının durdurulmasına yardımcı olur (Tech, 2004).

Hümik asit bağırsakta duodenum mukozasında müsin- 2 gen pozitif olarak düzenlemektedir (Mudroňová ve ark., 2020).

Hümik maddeler ilaç değildir; bu nedenle herhangi bir yan etkisi bulunmamaktadır. Sağlıklı deri yenilenmesini destekler, cildin uygun pH dengesini sağlar. Yıpranmış cildi nazik bir ovma etkisiyle pürüzsüzleştirir ve gençleştirir. Yaşlanma belirtilerini azaltır, cilt yüzeyindeki zararlı maddeleri temizler. Derinin tonunu dengeler ve içeriğindeki polifenoller sayesinde doğal hormon dengesini korur, iltihaplanmayı azaltır, ölü hücreleri yeniler ve cildi sıkılaştırır (Koehn, 2008).

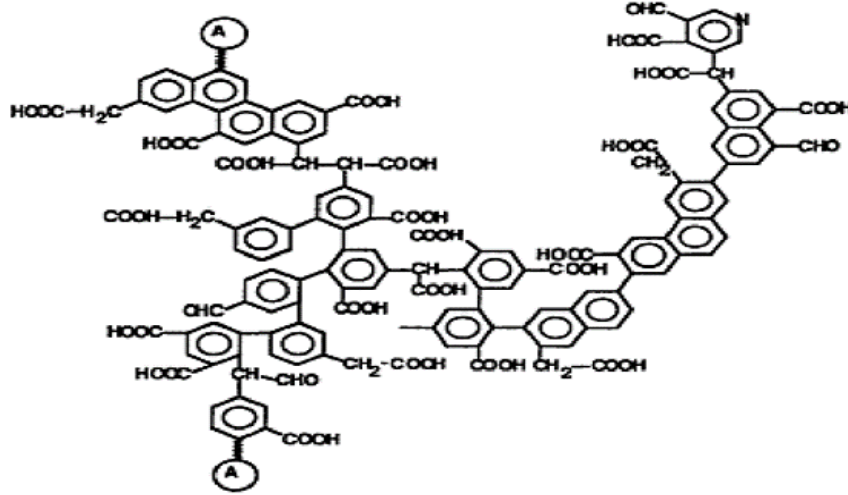
Kâğıt endüstrisinde ve geri dönüştürülebilir kâğıt üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca, akaryakıt kaynağı, iyon değiştirici ve endüstriyel alanlardaki diğer uygulamalarda hümik maddelerden yararlanılmaktadır (Duncan ve ark., 1981).

2.3 Hümik maddelerin yapısal özellikleri

Hümik asidin yapısı, aromatik halkalara ve çok sayıda karboksilik bir temele dayanmaktadır (Wershaw ve ark., 1977). Diğer karboksil hidroksil karbonil ve kinonil, alisiklik halkadan ve aromatik halkadan oluşan hümik asit içerir (García ve ark., 2020; Liu ve ark., 2020). Aromatik halkalar yoğun olarak bulunduğu, karboksilik COOH ve -OH gruplarının miktarları birbirine yakındır ve peptitlerde şeker grupları da mevcuttur. Peptit, amin, amid ve şeker uçlarına sahip olup, metal iyonları ile kompleks oluşturma yeteneğine sahiptir ve doğal bir makromoleküler yapıyı temsil eder (Stevenson, 1982). Hümik asitlerin bileşiminde yer alan elementlerin oranları şu şekildedir: karbon (C) %53.80–%58.70, oksijen (O) %32.70–%38.30, hidrojen (H) %3.20–%6.20, azot (N) %0.80–%5.50 ve kükürt (S) %0.10–%1.50 (Campbell ve ark., 1978; Gamboa ve Olea, 2006).

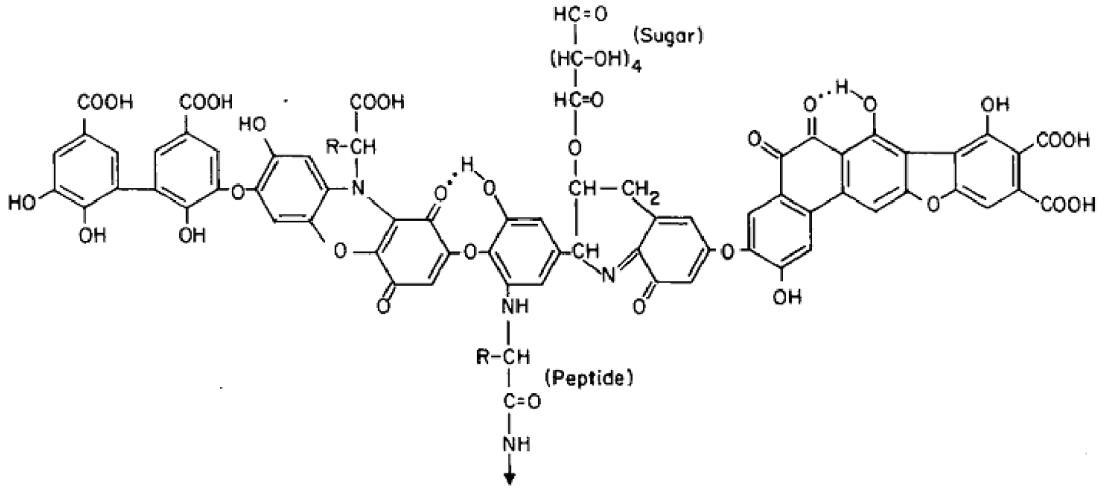
Hümik asit ve huminlere kıyasla, fulvik asitler daha fazla oksijen içerir (Metzger, 2003). Hümik maddeler, eter, lakton, alkolik hidroksil, kinon, hidroksikinon, enol, hidroksifenol ve karboksil gibi birçok farklı fonksiyonel gruba sahiptir (Stevenson, 1994; Levinsky, 2009).

Hümik asidin yapısında çok sayıda aromatik halka ve -COOH grubu olduğu bulundu. Hümik asid, karboksilik ve aromatik bileşenlerden oluşur, aromatik halkaların veya yan zincirlerin oksidasyonu, ardından gerçekleşen halojenlenme işlemi, klorlu alifatik yan ürünlerin oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca, doğal organik madde DOM'un klorlanmasıyla Aromatik halkaların veya yan zincirlerin oksidasyonu, ardından gerçekleşen halojenlenme süreci, klorlu alifatik yan ürünlerin oluşumunu ortaya çıkabilir (Seeger, 1984; De Leer ve ark., 1985).



Şekil 2.3. Hümik asidin yapısı (Leenheer ve ark., 1998)

Hümik asit çok sayıda aromatik halka içerir. Peptit ve şeker gruplarının yanı sıra, (-COOH) ve (-OH) gruplarının sayıları birbirine yakındır. Diğerlerinden farklı olarak, silika ve alümina parçalarında alifatik grupların bulunduğu, (N ve aldehit) parçalarının bulunduğu, amin, amid, peptit ve şeker uçlarının bulunduğu, Metal iyonları ile kompleks oluşturma yeteneğine sahip olduğu ve doğal bir makromoleküler yapı oluşturduğu düşünülmektedir (Stevenson, 1982).



Şekil 2.4. Hümik Asidin Molekül Yapısı (Stevenson, 1982)

2.4. Hümik maddelerin oluşum mekanizması

Hümik maddeler, hayvan kalıntıları ve bitkilerin çürümesi sırasında oluşan ligninden oluşur.

2.4.1. Lignin teorisi:

Alifatik yan zincirin oksidasyonu ve COOH grupları, lignindeki modifikasyon metoksil (OCH₃) gruplarının kaybı yoluyla hidroksi fenoller üretilir. Lignin ve hümik asit piridin ve alkol ile çözünür. OCH₃ grupları alkolde çözünür. Sulu alkali ile ısıtıldığında, ligninler metoksil içeren hümik asitlere dönüşürler. Oksitlenmiş ligninlere benzer özelliklere sahip olan hümik asitler vardır (Waksman, 1936).

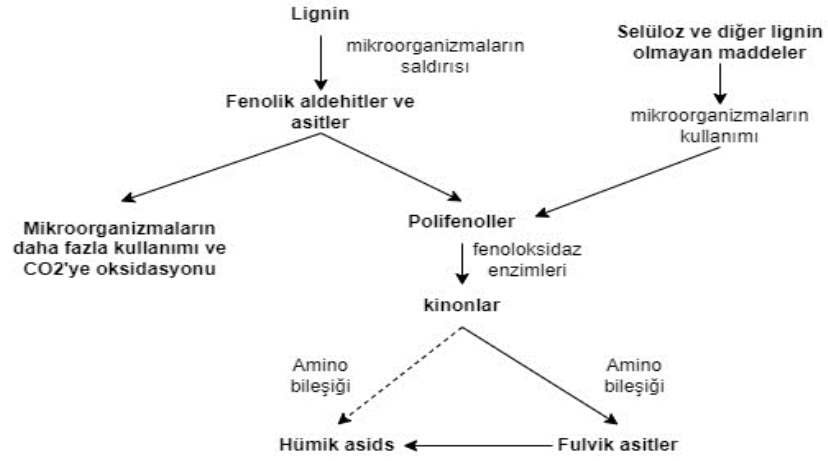
2.4.2. Polifenol teorisi

Mikrobiyolojik saldırı sırasında ligninden salınan fenolik aldehytler ve asitler enzimatik dönüşüm yoluyla polimerize olarak hümik asit oluşturur. Lignin olmayan mikroorganizmalar polifenoller üretir. Daha sonra kinonlara enzimatik olarak oksitlenir (Stevenson, 1982).

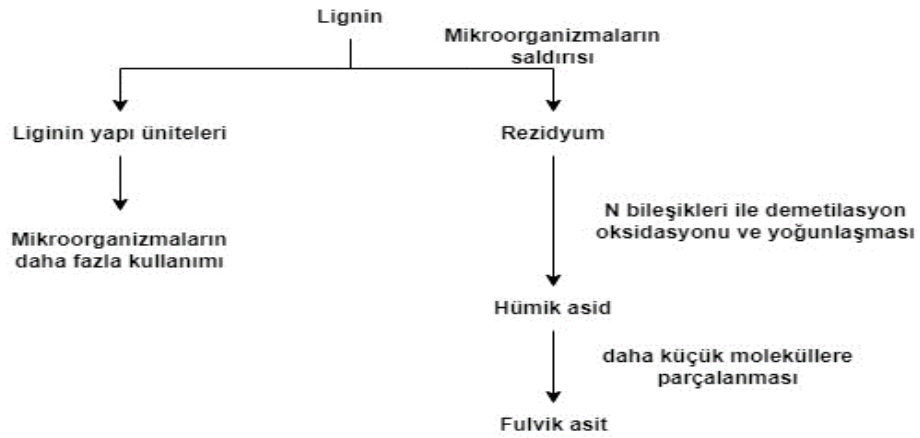
2.4.3. Şeker ve amin yoğunlaşması teorisi

Mikrobiyal metabolizma şeker ve amino asitleri azaltır. Bazı dehidrasyonlarda azotlu polimerler oluşturmak için enzimatik olmayan polimerizasyona maruz kalırlar. Şeker-amin yoğunlaşması, glikozilamin üretmek için şekerin aldehyt grubuna aminin eklenmesini içerir. 1-amino-deoksi-2-ketozu glikosilamin oluşturur. Ketonlar ve karbon zincirli aldehytler bunlardan oluşur. Örneğin, asetol ve diasetil gibi (Stevenson, 1982), (1) lignin teorisi, (2,3) polifenol teorisi ve (4) amino-şeker kondensasyon teorisi.

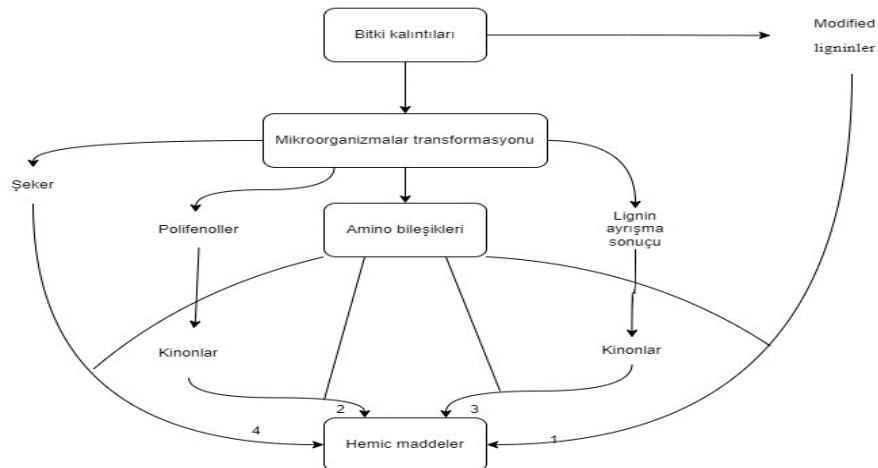
Şekil 2.1. Hümik asit oluşum mekanizması (Stevenson, 1982)



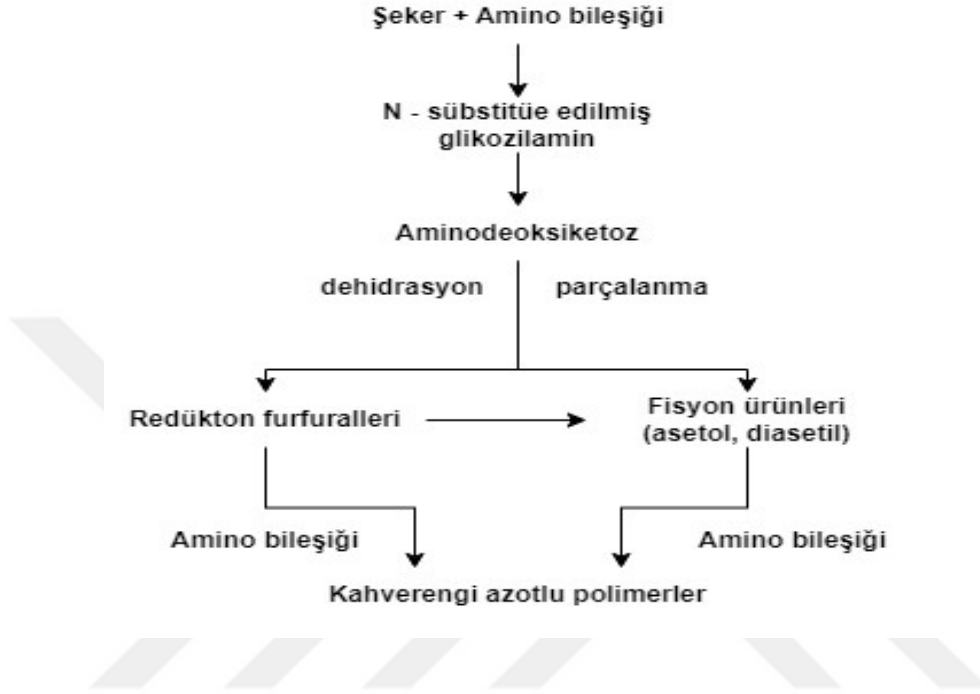
Şekil 2.2. Humus oluşumunun lignin teorisi (Waksman, 1936)



Şekil 2.3. Humus oluşumunun polifenol teorisi (Stevenson, 1982)



Şekil 2.4: Azotlu polimerler şeker amino yoğunlaşması (Stevenson, 1982)



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Araştırmada 72 haftalık yaşta toplam 240 adet Lohman hattı ticari yumurta tavuğu kullanılmıştır. Yumurta tavukları ticari bir firmadan temin edilmiştir. Deneme 5 grupta gerçekleştirilmiştir. Deneme grupları 12 tekerrürlü olup, her bir tekerrürde 4 adet yumurta tavuğu bulunmaktadır (5 Grup x 12 Tekerrür x 4 Tavuk = 240 Tavuk). Deneme SÜ Ziraat Fakültesi-Zootečni Bölümü – Prof. Dr. Orhan DÜZGÜNEŞ Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Tesisleri – Yumurta Tavukçuluğu Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Deneme her biri 28'er günlük 3 dönem halinde ve çok katlı kafeste yürütülmüştür.

3.1.2. Yem materyali

Denemede kullanılan bazal rasyon mısır – soya küspesi ağırlıklı olup, kontrol ve muamele gruplarına ait bütün rasyonlar izo-kalorik ve izo-nitrojenik olarak hazırlanmışlardır. Denemede bazal rasyona sırasıyla %0,35, %0,45, %0,55 ve %0,65 seviyelerinde hümkik asit ilave edilip helezon tipi mikserde karıştırılarak deneme rasyonları oluşturulmuştur. Kontrol grubu rasyonuna hümkik asit ilave edilmemiştir, yem ve su ad-libitum sağlanmıştır. Denemede 16 saat ışık + 8 saat karanlık standart aydınlatma programı uygulanmış, ışık şiddeti 15 lüks olarak ayarlanmıştır.

3.1.3. Hümkik asit

Denemede kullanılan leonardid bazlı sıvı hümkik asit özel bir firmadan temin edilmiş olup, bileşimi **Çizelge 3.1**'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan leonardid bazlı sıvı hümik asidin bileşimi ve pH aralığı

Bileşim	İçerik, % (ağırlık/ağırlık)
Toplam organik madde (OM)	%30
Toplam karbon (C)	%13
Toplam Azot (N)	%3
Suda çözünür potasyum oksit (K ₂ O)	%2
pH aralığı	4-6

3.2. Metot

3.2.1. Bazal rasyonun hazırlanması ve deneme gruplarının oluşturulması

Denemede kullanılan ince öğütülmüş formdaki mısır–soya küspesi ağırlıklı bazal rasyonun (Kontrol grubu) ve deneme grubu rasyonlarının (I, II, III, IV. gruplar) bileşimleri, hesaplanmış besin madde miktarları ve metabolik enerji değerleri sırasıyla Çizelge 3.2, Çizelge 3.3, Çizelge 3.4, Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6’da sunulmuştur.

Denemede, bazal rasyona sırasıyla dört farklı seviyede (%0,35, %0,45, %0,55 ve %0,65) hümik asit ilave edilmiştir. Bu çalışmada hümik asit içermeyen bazal rasyon grubu kontrol (Kontrol), farklı seviyelerde hümik asit içeren diğer dört grup ise (I: %0.35 hümik asit; II: %0.45 hümik asit; III: %0.,55 hümik asit; IV: %0,65 hümik asit) muamele grupları olarak kabul edilmişlerdir.

Deneme planı aşağıdaki gibidir:

Kontrol Grubu: Hümik asit ilave edilmemiştir.

I. Grup: Bazal rasyona %0,35 seviyesinde hümik asit ilave edilmiştir.

II.Grup: Bazal rasyona %0,45 seviyesinde hümik asit ilave edilmiştir.

III.Grup: Bazal rasyona %0,55 seviyesinde hümik asit ilave edilmiştir.

IV.Grup: Bazal rasyona %0,65 seviyesinde hümik asit ilave edilmiştir.

Denemede her bir grup oniki (12) tekerrürlü olup, her bir tekerrürde dört (4) adet yumurta tavuğu bulunmaktadır (5 Grup x 12 Tekerrür x 4 Tavuk = 240 Tavuk).

Deneme tesadüf parselleri deneme planına göre düzenlenmiş olup, her biri deneme periyodu 28'er günlük 3 dönem olarak yürütülmüştür.

Çizelge 3.2. Kontrol grubuna ait (hümkik asit içermeyen) bazal rasyonun bileşimi, hesaplanmış besin madde miktarı ve metabolik enerji değeri

Hammaddeler	Miktar (%)
Mısır	62,65
Soya fasülyesi küspesi (SFK-47 HP)	24,10
Ayçiçek yağı	1,50
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	10,01
Dikalsiyum fosfat (DCP-18)	0,48
Tuz (NaCl)	0,33
DL-Metiyonin	0,03
Vitamin-mineral premiks*	0,25
Dolgu maddesi (SiO ₂)	0,65
Hümkik asit	-

Hesaplanmış Besin Maddeleri	Miktar (%)
Kuru madde (KM)	89,77
Ham protein (HP)	16,03
Ham selüloz (HS)	2,54
Ham yağ (HY)	3,94
Ham kül (HK)	13,71
Kalsiyum (Ca)	4,00
Toplam fosfor (TP)	0,40
Yararlanılabilir fosfor (YP)	0,19
Lizin	0,89
Metiyonin	0,30
Metiyonin + sistin	0,60
Sodyum (Na)	0,14
Klor (Cl)	0,23
Linoleik asit	2,01

Metabolik enerji (ME) 2.836 kkal / kg

*Vitamin-Mineral premiksin 2,5 kg'ı 12.000.000 IU vitamin A, 2.500.000 vitamin D₃, 30.000 mg Vitamin E, 4.000 mg vitamin K₃, 3.000 mg B₁, 7.000 mg B₂, 5.000 mg B₆, 15 mg B₁₂, 30.000 mg Niasin, 10.000 mg Ca-D-Pantotenat, 45 mg D-Biotin, 1.000 mg Folik asit, 200.000 mg Kolin klorit, 80.000 mg Mn, 60.000 mg Fe, 60.000 mg Zn, 5.000 mg Cu, 1.000 mg I, 200 mg Co, 150 mg Se içermektedir.

Çizelge 3.3. Deneme grubuna ait (%0,35 hümik asit) rasyonun bileşimi, hesaplanmış besin madde miktarı ve metabolik enerji değeri

Hammaddeler	Miktar (%)
Mısır	62,65
Soya fasülyesi küspesi (SFK-47)	24,10
Ayçiçek yağı	1,50
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	10,01
Dikalsiyum fosfat (DCP-18)	0,48
Tuz (NaCl)	0,33
DL-Metiyonin	0,03
Vitamin-mineral premiks*	0,25
Dolgu maddesi (SiO ₂)	0,30
Hümik asit	0,35

Hesaplanmış Besin Maddeleri	Miktar (%)
Kuru madde (KM)	89,77
Ham protein (HP)	16,03
Ham selüloz (HS)	2,54
Ham yağ (HY)	3,94
Ham kül (HK)	13,71
Kalsiyum (Ca)	4,00
Toplam fosfor (TP)	0,40
Yararlanılabilir fosfor (YP)	0,19
Lizin	0,89
Metiyonin	0,30
Metiyonin + sistin	0,60
Sodyum (Na)	0,14
Klor (Cl)	0,23
Linoleik asit	2,01

Metabolik enerji (ME) 2.836 kkal / kg

*Vitamin-Mineral premiksin 2,5 kg'ı 12.000.000 IU vitamin A, 2.500.000 vitamin D₃, 30.000 mg Vitamin E, 4.000 mg vitamin K₃, 3.000 mg B₁, 7.000 mg B₂, 5.000 mg B₆, 15 mg B₁₂, 30.000 mg Niasin, 10.000 mg Ca-D-Pantotenat, 45 mg D-Biotin, 1.000 mg Folik asit, 200.000 mg Kolin klorit, 80.000 mg Mn, 60.000 mg Fe, 60.000 mg Zn, 5.000 mg Cu, 1.000 mg I, 200 mg Co, 150 mg Se içermektedir.

Çizelge 3.4. Deneme grubuna ait (%0,45 hümik asit) rasyonun bileşimi, hesaplanmış besin madde miktarı ve metabolik enerji değeri

Hammaddeler	Miktar (%)
Mısır	62,65
Soya fasülyesi küspesi (SFK-47)	24,10
Ayçiçek yağı	1,50
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	10,01
Dikalsiyum fosfat (DCP-18)	0,48
Tuz (NaCl)	0,33
DL-Metiyonin	0,03
Vitamin-mineral premiks*	0,25
Dolgu maddesi (SiO ₂)	0,25
Hümik asit	0,45

Hesaplanmış Besin Maddeleri	Miktar (%)
Kuru madde (KM)	89,77
Ham protein (HP)	16,03
Ham selüloz (HS)	2,54
Ham yağ (HY)	3,94
Ham kül (HK)	13,71
Kalsiyum (Ca)	4,00
Toplam fosfor (TP)	0,40
Yararlanılabilir fosfor (YP)	0,19
Lizin	0,89
Metiyonin	0,30
Metiyonin + sistin	0,60
Sodyum (Na)	0,14
Klor (Cl)	0,23
Linoleik asit	2,01

Metabolik enerji (ME) 2.836 kkal / kg

*Vitamin-Mineral premiksin 2,5 kg'ı 12.000.000 IU vitamin A, 2.500.000 vitamin D₃, 30.000 mg Vitamin E, 4.000 mg vitamin K₃, 3.000 mg B₁, 7.000 mg B₂, 5.000 mg B₆, 15 mg B₁₂, 30.000 mg Niasin, 10.000 mg Ca-D-Pantotenat, 45 mg D-Biotin, 1.000 mg Folik asit, 200.000 mg Kolin klorit, 80.000 mg Mn, 60.000 mg Fe, 60.000 mg Zn, 5.000 mg Cu, 1.000 mg I, 200 mg Co, 150 mg Se içermektedir.

Çizelge 3.5. Deneme grubuna ait (%0,55 hümik asit) rasyonun bileşimi, hesaplanmış besin madde miktarı ve metabolik enerji değeri

Hammaddeler	Miktar (%)
Mısır	62,65
Soya fasülyesi küspesi (SFK-47)	24,10
Ayçiçek yağı	1,50
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	10,01
Dikalsiyum fosfat (DCP-18)	0,48
Tuz (NaCl)	0,33
DL-Metiyonin	0,03
Vitamin-mineral premiks*	0,25
Dolgu maddesi (SiO ₂)	0,10
Hümik asit	0,55

Hesaplanmış Besin Maddeleri	Miktar (%)
Kuru madde (KM)	89,77
Ham protein (HP)	16,03
Ham selüloz (HS)	2,54
Ham yağ (HY)	3,94
Ham kül (HK)	13,71
Kalsiyum (Ca)	4,00
Toplam fosfor (TP)	0,40
Yararlanılabilir fosfor (YP)	0,19
Lizin	0,89
Metiyonin	0,30
Metiyonin + sistin	0,60
Sodyum (Na)	0,14
Klor (Cl)	0,23
Linoleik asit	2,01

Metabolik enerji (ME)	2.836 kkal / kg
------------------------------	-----------------

*Vitamin-Mineral premiksin 2,5 kg'ı 12.000.000 IU vitamin A, 2.500.000 vitamin D₃, 30.000 mg Vitamin E, 4.000 mg vitamin K₃, 3.000 mg B₁, 7.000 mg B₂, 5.000 mg B₆, 15 mg B₁₂, 30.000 mg Niasin, 10.000 mg Ca-D-Pantotenat, 45 mg D-Biotin, 1.000 mg Folik asit, 200.000 mg Kolin klorit, 80.000 mg Mn, 60.000 mg Fe, 60.000 mg Zn, 5.000 mg Cu, 1.000 mg I, 200 mg Co, 150 mg Se içermektedir.

Çizelge 3.6. Deneme grubuna ait (%0,65 hümik asit) rasyonun bileşimi, hesaplanmış besin madde miktarı ve metabolik enerji değeri

Hammaddeler	Miktar (%)
Mısır	62,65
Soya fasülyesi küspesi (SFK-47)	24,10
Ayçiçek yağı	1,50
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	10,01
Dikalsiyum fosfat (DCP-18)	0,48
Tuz (NaCl)	0,33
DL-Metiyonin	0,03
Vitamin-mineral premiks*	0,25
Dolgu maddesi (SiO ₂)	-
Hümik asit	0,65

Hesaplanmış Besin Maddeleri	Miktar (%)
Kuru madde (KM)	89,77
Ham protein (HP)	16,03
Ham selüloz (HS)	2,54
Ham yağ (HY)	3,94
Ham kül (HK)	13,71
Kalsiyum (Ca)	4,00
Toplam fosfor (TP)	0,40
Yararlanılabilir fosfor (YP)	0,19
Lizin	0,89
Metiyonin	0,30
Metiyonin + sistin	0,60
Sodyum (Na)	0,14
Klor (Cl)	0,23
Linoleik asit	2,01

Metabolik enerji (ME) 2.836 kkal / kg

*Vitamin-Mineral premiksin 2,5 kg'ı 12.000.000 IU vitamin A, 2.500.000 vitamin D₃, 30.000 mg Vitamin E, 4.000 mg vitamin K₃, 3.000 mg B₁, 7.000 mg B₂, 5.000 mg B₆, 15 mg B₁₂, 30.000 mg Niasin, 10.000 mg Ca-D-Pantotenat, 45 mg D-Biotin, 1.000 mg Folik asit, 200.000 mg Kolin klorit, 80.000 mg Mn, 60.000 mg Fe, 60.000 mg Zn, 5.000 mg Cu, 1.000 mg I, 200 mg Co, 150 mg Se içermektedir.

3.2.2. Verilerin toplanması

Deneme gruplarındaki hayvanların yumurta verimleri (YV) günlük olarak kaydedilmiştir. Her bir alt grupta toplanan yumurta sayıları belirlenmiş; yumurta ağırlıkları (YA) ise alt grup ortalaması olarak kaydedilmiştir. Yumurta kitlesi (YK) dönemsel olarak yumurta veriminin ortalama yumurta ağırlığı ile çarpılması sonucu hesaplanmıştır.

Deneme alt gruplarındaki yumurta tavukları grup olarak yemlenmiş ve verilen yem miktarları 28 günlük olarak kaydedilmiştir. Her dönem sonunda yemlikte kalan yemler tartılıp verilen toplam yem miktarından çıkartılarak ve o döneme ait yem tüketimi (YT) hesaplanmıştır. Yem değerlendirme katsayısı (YDK) ise, dönemlik olarak her bir alt grupta bulunan tavukların ortalama yem tüketimleri, o dönemin ortalama yumurta kitlesine bölünerek hesaplanmıştır ($YDK=YT/YK$).

Yumurta kabuk kalite kriterleriyle ilgili olarak; yumurta kabuk kırılma mukavemeti, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk özgül ağırlığı tayinleri 84 günlük dönemin son iki gününde toplanan yumurtalardan rastgele seçilen 12'şer adet yumurta üzerinde yapılmıştır.

Yumurta kabuk kırılma mukavemeti, kabuk mukavemeti ölçüm cihazı ile belirlenmiştir (Egg Force Reader, Orka Food Technology, Israel).

Yumurta kabuk ağırlığı, yumurtalar kırılıp içeriği ayrıldıktan sonra saf su ile yıkanmış, 105°C'de 24 saat süreyle etüvde kurutulduktan sonra soğutulup dijital terazide tartılarak bulunmuştur.

Yüzde kabuk ağırlığı ortalama kabuk ağırlıklarının toplanan yumurtaların ortalama yumurta ağırlıklarına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

Yumurta kabuk kalınlığı, mikrometre ile Ekvator bölgesi ve kutup bölgelerinden gerçekleştirilen ölçümlerin ortalaması olarak kaydedilmiştir.

Yumurta kabuk özgül ağırlığı ise, Archimedes prensibinden yararlanılarak yumurtaların havada ve su içerisinde 0.01 g'a hassas teraziyle tartımları sonucu hesaplanmıştır [$\text{Özgül ağırlık} = \text{Havadaki ağırlık} / (\text{havadaki ağırlık} - \text{sudaki ağırlık})$].

3.2.3. İmmünoglobülin analizleri

Deneme periyodunun sonunda her gruptan 6'şar tavuk olmak üzere toplam 24 tavuğun kanat altı damarlarından alınan kan örnekleri (yaklaşık 5 ml), vakumlu tüplere konulduktan sonra soğuk zincir ile laboratuvara getirilip santrifüje edilerek serumları alınmıştır. Biyokimya laboratuvarında buluelde edilen bu serumlar eppendorf tüplere porsiyonlanmıştır. Numunelerin serumları ayrılıp biyokimya laboratuvarında 600 fotometrik test / saat hızına sahip ROCHE C- 501 cihazıyla ölçümleri yapılarak immünoglobülin tip analizleri yapılmıştır (Shermer ve ark., 1998).

3.2.4. İncebağırsak (Duedonum) mikrobiyolojik analizler

Deneme periyodunun sonunda her gruptan 3'er adet almak üzere toplam 15 adet tavuğa nekropsi yapıldı. Steril ortamda ince bağırsağın duedonum bölümünden analizlerin yapılacağı örnekler alındı. Bu amaçla, nekropsisi yapılan yaşlı yumurta tavuklarının ince bağırsaklarından alınan örnekler steril şartlarda soğuk zincir altında transport sıvaplarında mikrobiyoloji laboratuvarına getirilerek buffer- pepton sudan 90 ml aktarıldı ve 37°C'de etüvde 24 saat ön zenginleştirme sonunda özel kültürlerle yayım yöntemiyle ekimleri yapıldı. Örnekler, *Salmonella spp* için spesifik *Salmonella* besiyeri, *Coliform spp* bakteriler için spesifik *Coliform* besiyere ekimleri yapıldı. Besiyerleri aerobik koşullarda 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda *Salmonella spp* ve *Coliform spp* kolonileri kalitatif olarak belirlendi (Mudroňová ve ark., 2020). Analizlerde kromojenik *Salmonella* besiyeri *Salmonella* alt türlerinin tespit ve identifikasyonunda kullanılmıştır. Oluşan tüm mor renkteki koloniler, *Salmonella spp* varlığını göstermektedir (Şekil.8.1) (Sharpe, 1979). Kromojenik *Coliform* besiyeri *Coliform* alt türlerinin tespit ve identifikasyonunda kullanılmıştır. Oluşan tüm yeşil renkteki koloniler, *Coliform spp* varlığını göstermektedir (Şekil.8.2) (Ossmer ve ark., 1999).

3.2.5 İnce bağırsak (Duedonum) histomorfolojik özelliklerin belirlenmesi

İncebağırsak histomorfolojik özelliklerini belirlemek için her bir gruptan 5'er tavuk kesilip incebağırsağın *duedonum* bölgesinden 5 cm uzunluğunda numuneler alınmış ve serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Oda sıcaklığında 3 gün (72 saat) %10'luk nötr tamponlu formalin çözeltisinde fiksasyonu tamamlanan numuneler, saf su ile yıkanıp, Oto-teknikon (Leica TP 1020) cihazında

derece kontrollü alkol çözeltilerinde (%70, %80, %90 ve %100 alkol) dehidrasyon işleminden sonra ksilolde şeffaflaştırılarak parafinizasyona tabi tutulmuşlardır.

Daha sonra numuneler parafine gömülerek rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır (Reichert-Jung 2030). Kesitler 37°C sıcaklıktaki etüvde kurutulduktan sonra hematoxilen eozin ile boyama işlemi gerçekleştirilmiştir (Musumeci, 2014). Boyama işleminden sonra numuneler mikroskopla (Olympus, Model 17 BX51TF, Olympus, Tokyo, Japan) incelenmiş ve mikroskopik fotoğrafları çekilmiştir (Olympus, DP12-BSW, ver. 01.03, Olympus, Tokyo, Japan) (Mayor, 1968; Özdemir ve Erer, 2012; KOÇAK ve ÖZAYDIN, 2019; Ceylan ve Ünal, 2020). Görüntüler, ImageJ yazılımı (Image J, ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, MD) kullanılarak villus yüksekliği ve villus genişliği belirlenmiştir (Thompson ve Applegate, 2006; Awad ve ark., 2009).

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Deneme tesadüf parselleri deneme planına göre düzenlenmiş olup, elde edilen veriler bu deneme planına göre Varyans Analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Deneme gruplarına ait grup ortalamaları arasındaki farklılıklar ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmişlerdir (Düzgüneş ve ark., 1987). İstatistiksel analizlerde Minitab (2000) ve MStat-C (1980) paket yazılımları kullanılmıştır.

Denemenin matematiksel modeli aşağıdaki gibidir:

$$Y_{jk} = \mu + a_i + e_{ik}$$

μ = Grup ortalaması

a_i = i. muamelenin etkisi

e_{ik} = Hata payı

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Performans Kriterleri

5.1.1 Yumurta verimi

Yaşlı Yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesinin farklı dönemlerde yumurta verimine etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 5.1'de sunulmuştur.

Çizelge 5.1. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yumurta verimlerine etkileri

<u>Rasyonlar</u>	<u>Yumurta verimi, (%)</u>			
	(0-28. günler)	(28-56. günler)	(56-84. günler)	(0-84. günler)
Kontrol* (Hümik asit ilavesiz)	65,95±3,63	82,65±6,01	80,57±8,48	75,75±3,81
I (%0,35 Hümik asit ilaveli)	70,84±3,88	87,95±1,97	88,93±7,99	82,58±3,58
II (%0,45 Hümik asit ilaveli)	66,75±1,81	83,93±6,34	83,53±6,78	79,78±4,04
III (%0,55 Hümik asit ilaveli)	65,69±2,49	76,33±6,81	93,38±1,62	79,38±3,94
IV (%0,65 Hümik asit ilaveli)	65,36±8,88	82,14±4,13	81,25±5,90	76,75±4,15
<i>P değeri</i>	<i>0,872</i>	<i>0,642</i>	<i>0,639</i>	<i>0,371</i>

* Kontrol: Hümik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Denemede kullanılan yumurta tavukları deneme öncesi hazırlık periyodunda enfeksiyon geçirdikleri için, 0-28 günlük periyotta verim özellikleri düşük çıkmıştır. Ancak, ilerleyen dönemlerde enfeksiyon etkilerinin kaybolduğu görülmüştür.

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının 0-28. Günler, 28-56. Günler, 56-84. Günler ve 0-84. Günler için yumurta verimi bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

İlk 0–28 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta verimleri sırasıyla %65,95, %70,84, %66,75, %65,69 ve %65,36 olarak gerçekleşmiştir. İlk 0–28 günlük dönem için en yüksek yumurta verimi I.grupta (%70,84), en düşük yumurta verimi ise IV.grupta (%65,36) gerçekleşmiştir.

28-56 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta verimleri sırasıyla %82,65, %87,95, %83,93, %76,33 ve %82,14 olarak gerçekleşmiştir. 28-56 günlük dönem için en yüksek yumurta verimi I.grupta (%87,95), en düşük yumurta verimi ise III.grupta (%76,33) gerçekleşmiştir.

56-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta verimleri sırasıyla %80,57, %88,93, %83,53, %93,38 ve %81,25 olarak gerçekleşmiştir. 56-84 günlük dönem için en yüksek yumurta verimi III.grupta (%93,38), en düşük yumurta verimi Kontrol grubunda (%80,57) gerçekleşmiştir.

0-84 günlük dönemde yumurta verimi bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 0-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta verimleri sırasıyla %75,75, %82,58, %79,78, %79,38 ve %76,75 olarak gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönem için en yüksek yumurta verimi I.grupta (%82,58), en düşük yumurta verimi Kontrol grubunda (%75,75) gerçekleşmiştir.

Hüyük asit ilavesinin 0-28.günler, 28-56.günler, 56-84.günler ve 0-86.günler itibariyle yumurta verimi bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz bulunmasına ilişkin istatistiksel analizler araştırıldığında, söz konusu verim özelliklerine ait istatistiksel parametrelerden Varyasyon Katsayıları (VK) kabul edilebilir aralıklarda çıkmıştır (ortalamalara ait standart hataların düşük olmasından dolayı). Dolayısıyla, istatistiksel analiz sonuçlarının, yüksek olasılık (P) değerleriyle, önemsiz bulunmuş olması, incelenen verim özelliklerine herhangi bir etkisinin bulunmadığını göstermektedir. Bu durumda, istatistiksel analizler sonucunda önemsiz çıkan verim özelliklerine ilişkin olarak nümerik (sayısal) değerlendirmelerde bulunmak, bilimsel yaklaşıma uygun olmayabilir. Hüyük asidin verim

özelliklerine etkisiyle ilgili akademik çalışmalarda parametrelere bağı olarak oldukça farklı sonuçlar alınmıştır. İlgili deneme sonuçları arasında bazı verim parametreleri bakımından kısmi benzerlikler bulunmaktadır.

Yumurta tavuklarının üretimi ve yumurta ağırlığı, hümkik asit tarafından artırılmaktadır (Shermer ve ark., 1998). Diyetlere %5 veya %10 oranında hümkik madde takviyesi, yumurta üretimini azaltsa da yumurta ağırlığını iyileştirdi (Wang ve ark., 2006).

Pik dönemden sonra rasyonlarına hümkik asit ilavesi yumurta verimini anlamlı düzeyde artırdığı bildirilmiştir (Ozturk ve Çoşkun, 2005).

Macit ve ark. (2009) ise yumurta tavuk rasyonlarına hümkik asit ilavesinin verim özelliklerini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Rasyonlara hümkik asit ilave edilen gruplarda yumurta veriminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Bunun aksine, bazı çalışmalar hümkik asit ilavesinin yumurta tavuklarında verimi etkilemediğini (Ergin ve ark., 2009) veya pozitif yönde bir etki oluşturduğunu (Hayirli ve ark., 2005) tespit etmiştir.

Başka bir çalışmada ise, (%0,3) oranında hümkik asit ilavesi yumurta verimini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (Öztürk, 2012). Yumurta tavuğu rasyonlarında humat ilavesi gruplar arasında yumurta verimi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır ($p<0,05$) (Köksal, 2012).

5.1.2. Yumurta ağırlığı

Farklı seviyelerde hümkik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yumurta ağırlıklarına etkilerine ilişkin sonular Çizelge 5.2'de sunulmuştur.

Çizelge 5.2. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yumurta ağırlıklarına etkileri

<u>Rasyonlar</u>	<u>Yumurta ağırlığı, (g)</u>			
	(0-28. günler)	(28-56. günler)	(56-84. günler)	(0-84. günler)
Kontrol* (Hümik asit ilavesiz)	59,47±1,94	59,02±1,69	61,28±1,30	59,92±0,93
I (%0,35 Hümik asit ilaveli)	62,06±1,52	59,66±1,88	60,78±0,78	60,91±0,84
II (%0,45 Hümik asit ilaveli)	61,30±1,79	62,74±1,40	60,87±2,02	61,64±0,97
III (%0,55 Hümik asit ilaveli)	62,03±2,23	60,41±1,89	61,18±1,56	61,21±1,05
IV (%0,65 Hümik asit ilaveli)	62,14±1,37	63,01±0,61	63,57±1,69	62,85±0,72
<i>P değeri</i>	<i>0,642</i>	<i>0,365</i>	<i>0,782</i>	<i>0,346</i>

* Kontrol:Humik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının 0-28. Günler, 28-56. Günler, 56-84. Günler ve 0-84. Günler için yumurta ağırlığına etkileri bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

İlk 0–28 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta ağırlığı özellikleri sırasıyla 59,470 g/g, 62,063 g/g, 61,300 g/g, 62,038 g/g; ve 62,148 g/g olarak gerçekleşmiştir. İlk 0–28 günlük dönem için en yüksek ortalama yumurta ağırlığının IV. grupta (62,148), yumurta ağırlığının en düşük ortalama ise Kontrol gurubunda (59,470) gerçekleşmiştir.

28-56. günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta ağırlıkları sırasıyla 59,02 g, 59,66 g, 62,74 g, 60,41 g ve 63,01 g olarak gerçekleşmiştir. 28-56 günlük dönem

için en yüksek ortalama yumurta ağırlığı IV.grupta (63,01 g), en düşük ortalama yumurta ağırlığı ise Kontrol grubunda (59,02 g) gerçekleşmiştir.

56-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta ağırlıkları sırasıyla 61,28 g, 60,78 g, 60,86 g, 61,17 g ve 63,57 g olarak gerçekleşmiştir. 56-84 günlük dönem için en yüksek ortalama yumurta ağırlığı IV.grupta (63,57 g), en düşük ortalama yumurta ağırlığı I.grupta (60,78 g) gerçekleşmiştir.

0-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta ağırlıkları sırasıyla 59,92 g, 60,91 g, 61,63 g, 61,21 g ve 62,85 g; günlük olarak gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönem için en yüksek ortalama yumurta ağırlığı IV.grupta (62,85 g), en düşük ortalama yumurta ağırlığı ise Kontrol grubunda (59,92 g) gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönemde ortalama yumurta ağırlığının referans değerlerinden düşük olmasının sebebi hayvanların deneme öncesi yaşadıkları enfeksiyona atfedilebilir.

Yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesiyle ilgili çalışmalarda, hümik asit ilavesinin verim üzerine önemli bir etkisinin olmamasına rağmen yumurta büyüklüğünü önemli seviyede arttırdığı kaydedilmiştir (Hughes ve Dun, 1983; Tancho, 1999).

Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre, yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesi yumurta büyüklüğü üzerine olumlu bir etki yapmamıştır. Ancak, rakamsal olarak deneme sonu %0,5 ve %0,65'lik hümik asit seviyeleri Kontrol grubuna göre yumurta ağırlığını biraz arttırmıştır.

Yumurta tavuklarının üretimi ve yumurta ağırlığı, hümik asit tarafından artırılmaktadır (Shermer ve ark., 1998). Diyetlere %5 veya %10 oranında hümik madde takviyesi, yumurta üretimini azaltsa da yumurta ağırlığını iyileştirdi (Wang ve ark., 2006).

Hümik asit içeren yumurta tavuk rasyonlarına eklendiğinde yemden yararlanma oranını, yumurta üretimi ve yumurta ağırlığı artırırken, Hugh birim değerleri de artmıştır (Zhang ve ark., 2020), yumurta sarısı rengi de iyileşmiştir (Hayirli ve ark., 2005; Kucukersan ve ark., 2005a; Maysa ve Sheikh, 2008; Dobrzański ve ark., 2009; Ergin ve ark., 2009).

Yumurta ağırlığı yaş ilerledikçe artar, ancak kabuk kalınlığı ve haugh birimi azalır (Akbaş ve ark., 1996). Yaşlı tavukların yumurtaları kırıldığında genç tavuklara göre yumurta içeriği daha çabuk dağılır (Luykx, 1994).

5.1.3. Yem tüketimi

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yem tüketimlerine etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 5.3'te sunulmuştur.

Çizelge 5.3 Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yem tüketimlerine etkileri

<u>Rasyonlar</u>	<u>Yem tüketimi, (g/gün)</u>			
	(0-28. günler)	(28-56. günler)	(56-84. günler)	(0-84. günler)
Kontrol* (Hümik asit ilavesiz)	107,71±8,62	102,53±2,07	100,19±6,68	103,74±3,75
I (%0,35 Hümik asit ilaveli)	99,48±11,49	98,56±5,04	106,31±4,34	101,33±3,34
II (%0,45 Hümik asit ilaveli)	97,45±3,55	108,09±3,06	113,33±5,51	106,29±2,77
III (%0,55 Hümik asit ilaveli)	114,96±5,90	107,55±8,21	105,50±5,78	109,33±3,78
IV (%0,65 Hümik asit ilaveli)	91,87±4,82	102,51±5,82	118,53±5,63	103,35±4,26
<i>P değeri</i>	<i>0,639</i>	<i>0,705</i>	<i>0,261</i>	<i>0,539</i>

* Kontrol: Hümik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının 0-28. Günler, 28-56. Günler, 56-84. Günler ve 0-84. Günler için yem tüketimine etkileri bakımından gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

İlk 0–28 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV.grupların ortalama günlük yem tüketimleri sırasıyla 107,71 g/gün, 99,48 g/gün, 97,45 g/gün 114,96 g/gün ve 91,87 g/gün olarak gerçekleşmiştir. 0-28 günlük dönem için en yüksek yem tüketimi III.grupta (114,96 g/gün), en düşük yem tüketimi ise IV.grupta (91,87 g/gün) gerçekleşmiştir.

28-56 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem tüketimleri sırasıyla 102,53 g/gün, 98,56 g/gün, 108,09 g/gün, 107,55 g/gün ve 102,51 g/gün olarak gerçekleşmiştir. 28-56 günlük dönem için en yüksek ortalama günlük yem tüketimi II.grupta (108,09 g/gün), en düşük yem tüketimi ise I.grupta (98,56 g/gün) gerçekleşmiştir.

56-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların günlük ortalama yem tüketimleri sırasıyla 100,19 g/gün, 106,31 g/gün, 113,33 g/gün,105,50 g/gün ve 118,53 g/gün olarak gerçekleşmiştir. 56-84 günlük dönem için en yüksek yem tüketimi IV.grupta (118,53 g/gün), en düşük yem tüketimi ise Kontrol grubunda (100,19 g/gün) gerçekleşmiştir.

0-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem tüketimleri sırasıyla 103,74 g/gün, 101,33 g/gün, 106,29 g/gün, 109,33 g/gün ve 103,35 g/gün olarak gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönem için en yüksek en yüksek yem tüketimi III.grupta (109,33 g/gün), en düşük yem tüketimi ise I.grupta (101,33 g/gün) gerçekleşmiştir.

(Yörük ve ark., 2004a) yumurta tavuğu rasyonlarına hümik asit ilavesinin yem tüketiminde arttırdığını, (Purvis, 1986) ise yumurta tavuklarında hümik asit kullanımının tavukların yem tüketimini ve yumurta ağırlığının arttırırken yumurta verimi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Öte yandan (YÖRÜK ve ark., 2008) hümik asit kullanımının yumurta tavuklarının yem tüketimlerini önemli seviyede etkilemediğini bildirmişlerdir. Bu sonuç, mevcut çalışma bulgularıyla örtüşmektedir.

5.1.4. Yumurta kitlesi

Farklı seviyelerde hümkik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yumurta kitlesine etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 5.4'te sunulmuştur.

Çizelge 5.4 Farklı seviyelerde hümkik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yumurta kitlesine etkileri

Rasyonlar	Yumurta kitlesi, (g)			
	(0-28. günler)	(28-56. günler)	(56-84. günler)	(0-84. günler)
Kontrol* (Hümkik asit ilavesiz)	39,86 ± 2,51	48,78 ± 3,77	49,49 ± 5,47	46,04 ± 2,49
I (%0,35 Hümkik asit ilaveli)	44,49 ± 2,39	52,59 ± 2,68	54,17 ± 5,13	50,42± 2,24
II (%0,45 Hümkik asit ilaveli)	39,59 ± 2,47	52,44 ± 4,67	51,09 ± 4,90	48,85 ± 2,95
III (%0,55 Hümkik asit ilaveli)	40,83 ± 3,56	45,22 ± 4,15	57,50 ± 1,83	48,35 ± 2,63
IV (%0,65 Hümkik asit ilaveli)	40,74 ± 6,22	51,67 ± 2,26	51,62 ± 3,87	48,37 ± 2,82
<i>P değeri</i>	<i>0,801</i>	<i>0,582</i>	<i>0,755</i>	<i>0,807</i>

* Kontrol:Hümkik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümkik asit; II: %0,45 Hümkik asit; III: %0,55 Hümkik asit; IV: %0,65 Hümkik asit

Farklı seviyelerde hümkik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarında 0-28. Günler, 28-56. Günler, 56-84. Günler ve 0-84. Günler için yumurta kitlesi bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

İlk 0–28 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta kitleleri sırasıyla 39,86 g, 44,49 g, 39,59 g, 40,83 g ve 40,74 g olarak gerçekleşmiştir. İlk 0–28 günlük dönem için en yüksek yumurta kitlesi I. grupta (44,49 g), en düşük yumurta kitlesi ise II. grupta (39,59) gerçekleşmiştir.

28-56 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta kitleleri sırasıyla 48,78 g, 52,59 g, 52,44 g, 45,22 g ve 51,67 g olarak gerçekleşmiştir. 28-56 günlük dönem için en yüksek yumurta kitlesi I.grupta (52,59 g), en düşük yumurta kitlesi ise III.grupta (45,22 g) gerçekleşmiştir.

56-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta kitleleri sırasıyla 49,49 g, 54,17 g, 51,09 g, 57,50 g ve 51,62 g olarak gerçekleşmiştir. 56-84 günlük dönem için en yüksek ortalama yumurta kitlesi III.grupta (57,50 g), en düşük yumurta kitlesi ise Kontrol grubunda (49,49 g) gerçekleşmiştir.

0-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yumurta kitleleri sırasıyla 46,04/g, 50,42 g, 48,85 g, 43,35 g; ve 48,37 g olarak gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönem için en yüksek ortalama yumurta kitlesi I.grupta (50,42 g), en düşük yumurta kitlesi ise Kontrol grubunda (46,04 g) gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönemde ortalama yumurta kitlesinin referans değerlerinden düşük olmasının sebebi hayvanların deneme öncesi yaşadıkları enfeksiyona atfedilebilir.

İstatistiksel olarak önemli bulunmamış olsa da, rakamsal olarak yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına %0,35 hümik asit ilavesi (I.grup) yumurta kitlesini kontrol ve diğer deneme gruplarına göre arttırmıştır.

Farklı oranlarda hümik asidin (0, 2.0, 4.0 veya 6.0 mg/kg) yaşlı yumurta tavuklarının rasyonlarına ilave edilmesinin yumurta üretimi, ağırlığı ve kütlesini önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Arafat ve ark., 2015).

Geç dönem yumurtlayan bıldırcınlarda rasyona organik asit eklendiğinde yem tüketimi ve yumurta kitlesinde önemli farklılıklar ($p < 0,05$) gözlemlendi (Lokapirnasari ve ark., 2024).

5.1.4. Yem değerlendirme katsayısı

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yem değerlendirme katsayısına etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 5.5'te sunulmuştur.

Çizelge 5.5. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının dönemlere göre yem değerlendirme katsayısına etkileri

<u>Rasyonlar</u>	<u>YDK* (g/g)</u>			
	(0-28. günler)	(28-56. günler)	(56-84. günler)	(0-84. günler)
Kontrol** (Hümik asit ilavesiz)	2,63 ± 0,30	2,16 ± 0,18	2,16 ± 0,35	2,32 ± 0,16
I (%0,35 Hümik asit ilaveli)	2,40 ± 0,07	1,90 ± 0,18	2,10 ± 0,37	2,14 ± 0,14
II (%0,45 Hümik asit ilaveli)	2,62 ± 0,13	2,17 ± 0,21	2,33 ± 0,26	2,35 ± 0,14
III (%0,55 Hümik asit ilaveli)	3,01 ± 0,38	2,41 ± 0,19	1,90 ± 0,16	2,40 ± 0,18
IV (%0,65 Hümik asit ilaveli)	2,50 ± 0,49	2,10 ± 0,09	2,31 ± 0,07	2,31 ± 0,14
<i>P değeri</i>	<i>0,641</i>	<i>0,415</i>	<i>0,807</i>	<i>0,778</i>

*YDK: Yem Değerlendirme Katsayısı

** Kontrol: Hümik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarında 0-28. Günler, 28-56. Günler, 56-84. Günler ve 0-84. Günler için yem değerlendirme katsayısı bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

İlk 0–28 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem değerlendirme katsayıları sırasıyla 2,63 g/g, 2,40 g/g, 2,62 g/g, 3,01 g/g ve 2,50 g/g olarak gerçekleşmiştir. İlk 0–28 günlük dönem için en yüksek ortalama YDK III.grupta (3,01 g/g), en düşük ortalama YDK ise I.grupta (2,40 g/g) gerçekleşmiştir.

28-56 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem değerlendirme katsayıları sırasıyla 2,16 g/g, 1,90 g/g, 2,17 g/g, 2,41 g/g ve 2,10 g/g olarak gerçekleşmiştir.

28-56 günlük dönem için en yüksek ortalama YDK III.grupta (2,41 g/g), en düşük ortalama YDK ise I.grupta (1,90 g/g) gerçekleşmiştir.

56-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem değerlendirme katsayıları sırasıyla 2,16 g/g, 2,10 g/g, 2,33 g/g, 1,90 g/g ve 2,31 g/g olarak gerçekleşmiştir. 56-84 günlük dönem için en yüksek ortalama YDK II.grupta (2,33 g/g), en düşük ortalama YDK ise III.grupta (1,90 g/g) gerçekleşmiştir.

0-84 günlük dönem için Kontrol, I, II, III ve IV. grupların ortalama yem değerlendirme katsayıları sırasıyla 2,32 g/g, 2,14 g/g, 2,35 g/g, 2,40 g/g ve 2,31 g/g olarak gerçekleşmiştir. 0-84 günlük dönem için en yüksek ortalama YDK III.grupta (2,40 g/g), en düşük ortalama YDK ise I.grupta (2,14 g/g) gerçekleşmiştir.

İstatistiksel olarak önemli bulunmamış olsa da, rakamsal olarak yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına %0,35 hümik asit ilavesi (I.grup) yem değerlendirme katsayısını kontrol ve diğer deneme gruplarına göre oldukça düşürmüştür.

Hümik asit, kanatlıların yem değerlendirme katsayısını desteklemek için rasyonlarına ilave edilmektedir (Shermer ve ark., 1998).

Kanatlı rasyonlarına hümik asit ilavesiyle ilgili yapılmış çalışmalarda oldukça farklı sonuçlar alınmıştır.

(Küçükersan ve ark., 2003) yumurta tavuğu rasyonlarına 2.0 g/kg ve 4.0 g/kg hümik asit ilavelerinin yem tüketimini etkilemediği, 2.0 g/kg seviyesinde hümik asit ilavesinin yumurta verimi ve yem değerlendirme katsayısını olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde (Yörük ve ark., 2004b), yumurta tavuğu rasyonlarına % 0.1 ve 0.2 seviyelerinde hümik asit ilavesinin yumurta ağırlığı ve yem tüketimini etkilemediğini, ancak yumurta verimi ve yem değerlendirme katsayısını iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

(Eren ve ark., 2008) yumurta tavuklarının rasyonuna %25 ml/L hümik asit ilavesinin yumurta ağırlığını etkilemediğini, yem tüketiminin düştüğünü, yumurta verimi ve yem değerlendirme katsayısının rasyonuna sıvı humat ilavesinden olumlu yönde etkilendiğini bildirmişlerdir.

5.2. Yumurta kabuk kalite özellikleri

Yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesinin yumurta kabuk kalitesine (kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı) etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 5.6'da sunulmuştur.

Çizelge 5.6. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının yumurta kabuk kalite özelliklerine etkileri

Rasyonlar	Kabuk kırılma direnci (kg)	Yumurta kabuk ağırlığı (g)	Kabuk özgül ağırlığı (g/cm ³)	Yumurta kabuk kalınlığı (µm)	Yumurta kabuk oranı (%)
Kontrol* (Hümik asit ilavesiz)	4,50±0,08	5,87±0,07	1,96±0,09	293,40±0,90	9,21±0,07
I (%0,35 Hümik asit ilaveli)	4,38±0,07	5,64±0,04	1,90±0,01	288,30±1,43	9,24±0,05
II (%0,45 Hümik asit ilaveli)	4,59±0,04	5,78±0,03	1,99±0,00	300,00±1,51	9,60±0,06
III (%0,55 Hümik asit ilaveli)	5,05±0,04	5,74±0,04	1,91±0,01	296,00±1,23	9,47±0,03
IV (%0,65 Hümik asit ilaveli)	4,32±0,06	5,99±0,02	1,94±0,01	291,00±1,27	9,20±0,03
<i>P değeri</i>	<i>0,110</i>	<i>0,539</i>	<i>0,440</i>	<i>0,313</i>	<i>0,404</i>

* Kontrol:Humik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının yumurta kabuk kalitesine (kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı) etkileri bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Kontrol, I, II, III ve IV.grupların kabuk kırılma dirençleri sırasıyla 4,5 kg, 4,38 kg, 4,59 kg, 5,05 kg ve 4,32 kg; yumurta kabuk ağırlıkları sırasıyla 5,87 g, 5,64 g, 5,78 g, 5,74 g ve 5,99 g; kabuk özgül ağırlıkları 1,96 g/cm³, 1,90 g/cm³, 1,99 g/cm³, 1,91 g/cm³ ve 1,94 g/cm³; yumurta kabuk kalınlıkları sırasıyla 293,40 µm, 288,30 µm, 300,00 µm, 296,00 µm ve 291,00 µm; yumurta kabuk oranları sırasıyla %9,21, %9,24, %9,60, %9,47 ve %9,20 olarak gerçekleşmiştir.

Rakamsal olarak en yüksek kabuk kırılma direnci III.grupta (%0,55 hümik asit ilaveli) (5,05 kg), en düşük kabuk kırılma direnci IV.grupta (%0,65 hümik asit ilaveli) (4,32 kg); en yüksek yumurta kabuk ağırlığı IV.grupta (%0,65 hümik asit ilaveli) (5,99 g), en düşük yumurta kabuk ağırlığı I.grupta (%0,35 hümik asit ilaveli) (5,64 g); en yüksek kabuk özgül ağırlığı II.grupta (%0,45 hümik asit ilaveli) (1,99 g/cm³), en düşük kabuk özgül ağırlığı I.grupta (%0,35 hümik asit ilaveli) (1,90 g/cm³); en yüksek yumurta kabuk kalınlığı II.grupta (%0,45 Hümik asit ilaveli) (300,00 µm), en düşük yumurta kabuk kalınlığı I.grupta (%0,35 hümik asit ilaveli) (288,30 µm); en yüksek yumurta kabuk oranı II.grupta (%0,45 Hümik asit ilaveli) (%9,60), en düşük yumurta kabuk oranı IV.grupta (%0,65 hümik asit ilaveli) (%9,20) gerçekleşmiştir.

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranına önemli bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Yumurta kırılma direncinin 3,50 kg (yaklaşık 35 Newton) ve üzerinde olması ticari yumurta tavukçuluğunda yeterli olarak kabul edilmektedir. Bütün deneme gruplarında yumurta kabuk oranının %10'un altında gerçekleşmiş olması, hayvanların yaşına bağlı olarak yumurta büyüklüğünün artması ve kalsiyum metabolizmasının düşmesine atfedilebilir. Benzer yorumlar yumurta kabuk ağırlığı, kabuk özgül ağırlığı ve yumurta kabuk kalınlığı için de geçerli olabilir. Dolayısıyla, yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesinin yumurta kabuk kalite kriterlerine önemli bir etkisinin olmadığını söylemek mümkün olabilir.

Mevcut deneme sonuçları (Yörük ve ark., 2004a), (Kucukersan ve ark., 2005b)'nın bildirişleriyle örtüşürken; (Macit ve ark., 2009), (Hayirli ve ark., 2005)'nin yumurta tavuğu rasyonlarına hümik asit ilavesinin yumurta kabuk kriterlerini olumlu yönde etkilediğine ilişkin

bulgularıyla çelişmektedir. Yapılan araştırmalar, kabuk kalınlığı, yumurtanın özgül ağırlığı, kabuk ve yumurtanın ağırlığı gibi faktörlerin birbirleriyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Tyler ve Geake, 1964; Hamilton, 1982). Yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde hümik asit ilavesinin verim parametrelerini etkilemediğini, ancak yumurta kabuk kalitesini ise olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir (Ceylan ve ark., 2003). Yaşlı bıldırcınlarda verim özellikleri kabuk kalitesi düşmekte; yumurta ağırlığı artmaktadır (Şeker ve ark., 2005).

Yumurta tavuklarının farklı yaşlarında yumurta kalitesini etkileyen faktörler incelenmiştir. yumurta ağırlığı, özgül ağırlık, kabuk kalınlığı, kabuk kırılma direnci, ak endeksi, sarı endeksi, haugh birimi ve sarı rengi gibi değişkenler önemli olsa da, şekil endeksi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir (Eleroğlu ve ark., 2014). Hümik asit kullanımının kabuk kalınlığı ve özgül ağırlığın kabuk gücüne etkisi olduğunu ve yumurta ağırlığı kabuk gücüne etkisi olmadığı bildiren pek çok tartışılan araştırmalar vardır (Buss, 1982; Potts Sr ve Washburn, 1983).

6. İncebağırsak (Duedonum) Villus Genişliği ve Villus Uzunluğu

Yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen hümik asidin incebağırsak (*duedonum*) villus genişliği ve villus uzunluğuna etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 6.1’de ve istatistiksel analiz sonuçları ise Ek 5’te sunulmuştur.

Çizelge 6.1. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının incebağırsak (*duedonum*) villus genişliği ve villus uzunluğuna etkileri

<u>Rasyonlar</u>	Duedonum Villus Genişliği (mm)	Duedonum Ortalama Villus Uzunluğu (mm)
Kontrol* (<i>Hümik asit ilavesiz</i>)	0,140±0,044	1,200±0,029
I (%0,35 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	0,185±0,095	1,390±0,780
II (%0,45 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	0,265±0,215	1,965±0,555
III (%0,55 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	0,270±0,040	1,850±0,520
IV (%0,65 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	0,060±0,049	1,200±0,289
<i>P değeri</i>	0,663	0,749

* Kontrol:Hümik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

İnce bağırsak (*duedonum*) histomorfolojik özelliklerine ilişkin olarak duedonum villus genişliği ve villus uzunluğu bakımından grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Kontrol, I, II, III ve IV. gruplar için villus genişlikleri sırasıyla 0,140 mm, 0,185 mm, 0,265 mm, 0,270 mm ve 0,060 mm olarak gerçekleşmiş olup, en yüksek duedonum ortalama villus genişliği III (%0,55 hümik asit ilaveli) ve II (%0,45 hümik asit ilaveli) gruplarında (sırasıyla 0.270 mm ve 0.265 mm); en düşük değerler ise IV (%0,65 hümik asit ilaveli) ve Kontrol (hümik asit ilavesiz) gruplarında (sırasıyla 0,060 mm ve 0,140 mm) olarak gerçekleşmiştir.

Kontrol, I, II, III ve IV. gruplar için villus yükseklikleri ise sırasıyla 1,200 mm, 1,390 mm, 1,965 mm, 1,850 mm ve 1,200 mm olarak gerçekleşmiş olup, en yüksek villus genişliği III (%0,55 hümik asit ilaveli) ve II (%0,45 hümik asit ilaveli) gruplarında (sırasıyla 0,270 mm ve 0,265 mm); en düşük değerler ise IV (%0,65 hümik asit ilaveli) ve Kontrol (hümik asit ilavesiz) gruplarında (sırasıyla 1,200 mm ve 1,390 mm) olarak gerçekleşmiştir.

Grupların incebağırsak (*duedonum*) ortalama villus genişliği ve villus yüksekliği bakımından grup ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz bulunması, mevcut bulguların bilimsel temele oturtulmasında çok önemlidir. Ancak, dikkate alınması gereken husus, istatistiksel analizlerin bir amaç değil, bir araç olduğu gerçeğidir. Dolayısıyla, bilimsel deneme bulgularının yorum ve değerlendirilmelerinde, istatistiksel analizlerle ilgili olarak, uygulamalara ilişkin grup ortalamaları, standart hataları, varyasyon katsayıları ve *p* (probability; olasılık) değerlerinin de birlikte dikkate alınarak irdelenmesi son derece önemlidir.

Bu değerlendirmeler ışığında, sübjektif olarak, *duedonum* ortalama villus genişliği ve *duedonum* ortalama villus uzunluğu dikkate alınarak yaşlı yumurta tavukları için %0,45 ve %0,55 seviyelerinde hümkik asit uygulamasının (sırasıyla II ve III. gruplar) optimal olabileceğini söylemek mümkün olabilir.

İncebağırsağın optimal histomorfolojik gelişimi, besin madde sindiriminin ve absorpsiyonunun yüksek, organizmanın immünolojik olarak daha sağlıklı olduğunun bir göstergesidir. Daha kısa, ince ve seyrek bir villus gelişimi besin madde sindiriminin ve absorpsiyonunun düşmesine, sindirim sisteminde lipopolisakkarid (LPS) gibi endotoksinlerin artmasına, goblet hücre sayısının çoğalması sonucu endojen glikoprotein kaybının artmasına, bağışıklık sisteminin düşmesine, ishale, enfeksiyon insidansının artmasına ve düşük performansla yol açabilir (Masouri ve ark., 2017).

Konuya ilişkin olarak farklı deney hayvanı türlerinde de hümkik asit uygulamasının ince bağırsak villus gelişimini ve bağırsak sağlığını olumlu yönlerde etkilediğini bildiren çok sayıda bilimsel çalışma bulunmaktadır (Taklimi ve ark., 2012; Disetlhe ve ark., 2017; Lala ve ark., 2017; López-García ve ark., 2021). Swatland (1994) optimal incebağırsak gelişiminin sindirim enzimleri üretimini artırdığını, dolayısıyla tüketilen besinlerin sindirim ve absorpsiyonlarının artırdığını rapor etmiştir.

(Pelicano ve ark., 2005) ince bağırsaklardaki artan villus yüksekliğinin absorpsiyon kapasitesini artırıp besin maddelerinden yararlanmayı iyileştirerek sağlık ve büyüme performansını olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. İncebağırsak mukozası morfolojik olarak

parmakçık şeklinde özel uzantılardan oluşmaktadır. *Villus intestinalis* olarak adlandırılan bu mukozal çıkıntılar bağırsak fonksiyonlarının ana unsurlarıdır. *Villus intestinalis* üzerinde mikrovillus denilen yapılar bulunmaktadır. Bunlar incebağırsağın iç yüzeyinde farklı sayı ve uzunluklarda bulunmakta olup; sindirim, absorpsiyon ve eritropoez (kök kan hücrelerinin oluşumu) gibi önemli fonksiyonları bulunmaktadır (Nowak ve ark., 1982; Swatland, 1994; Loh ve ark., 2010; Salmanzadeh ve Lotfi, 2015).

Villusun dip kısmından itibaren iki villus arasındaki en çukur kısma kadar olan bölüm kript (crypt) olarak bilinir ve burası kript derinliği olarak ifade edilir. Patojenlerden veya bunların toksinlerinden kaynaklanan derin kript oluşumları, villus yenilenme ihtiyacının arttığına önemli göstergesidir. Bilindiği gibi ağız mukoza hücrelerinden sonra en çabuk yenilenen hücreler incebağırsak epitel doku hücreleridir (Yason ve ark., 1987; Beckmann ve ark., 2006; Qu ve ark., 2008; Shakouri ve ark., 2009; Danzeisen ve ark., 2011). Villusun uzunluğu enterositlerin absorpsiyon kapasitesini artırmaktadır. Villus uzunluğunun (VU) kript derinliğine (KD) oranının yüksek olması (VU/KD) daha üstün absorpsiyon kapasitesine işaret etmektedir (Xu ve ark., 2003).

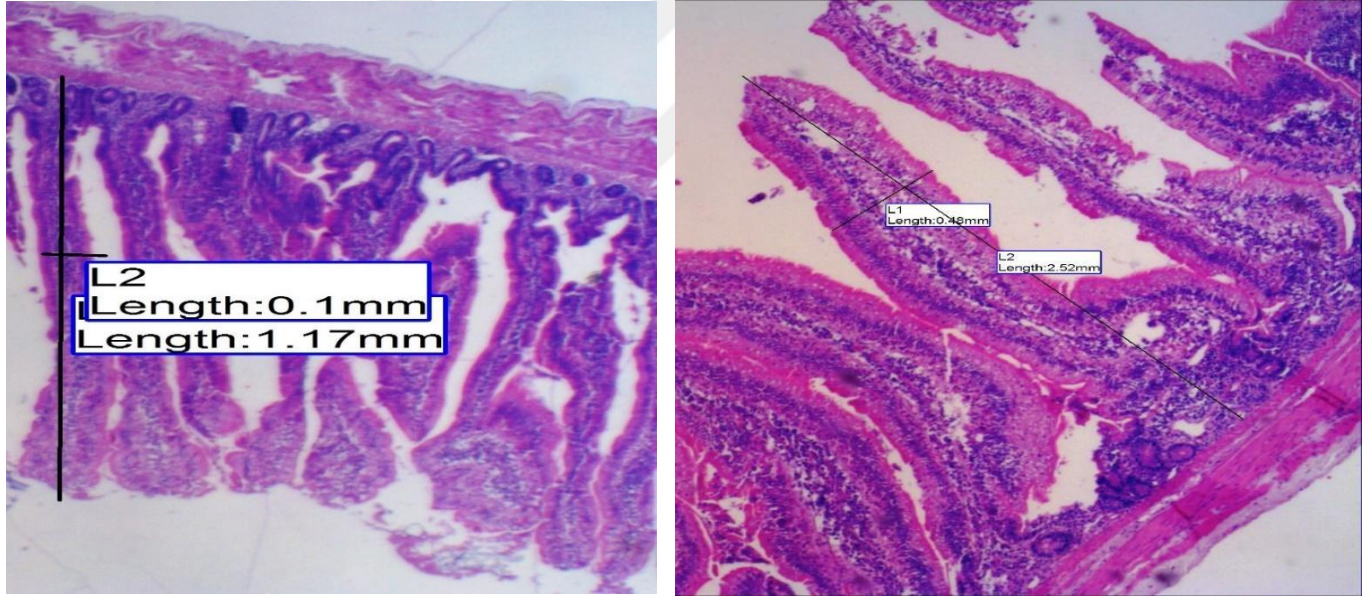
İncebağırsak histomorfolojisindeki değişiklikler fizyolojik çağa, rasyona ve bağırsak mikroflorasına bağlı olarak önemli değişimler gösterebilir (Van Leeuwen ve ark., 2004). Villusların hem uzunluğunun hem de genişliğinin artması absorpsiyon yüzeyini arttırarak besin maddelerinden daha iyi yararlanmayı sağlar (Caspary, 1992; Taklimi ve ark., 2012; Disetlhe ve ark., 2017; Lala ve ark., 2017).

López-García ve ark. (2021) hümkik asit içeren rasyonlarla yemlenen etlik piliçlerin incebağırsak duodenum bölgesinde goblet hücrelerinin sayısının arttığını bildirmiştir. Hümkik asit ince bağırsaktaki goblet hücrelerinin sayısını arttırıp, mukus (glikoprotein tabiatındaki kaygan sümüksü yapı) salgısını uyararak villus ve mikrovillusları patojenlere ve onların toksinlerine karşı korur.

Hümkik asit ayrıca incebağırsak viskozitesini değiştirerek, tüketilen besinlerin geçiş hızını düşürüp, besin maddelerinin sindirim ve absorpsiyonlatrını arttırır (Van der Klis ve ark., 1993; Yasar, 2003; Gomez-Rosales ve Angeles, 2015; Marcin ve ark., 2021). İncebağırsağın

histomorfolojisi sağlıklı ve dengeli bir sindirim sisteminin göstergesidir. Kısa ve az sayıdaki villuslar, derin kript oluşumları besin maddelerinin sindirim ve absorpsiyonlarında düşmeye, aşırı mûsin salgılanmasına, ishale, doğal bağışıklığın gerilemesine, çeşitli enfeksiyöz hastalıklara ve düşük performansa yol açabilir (Houshmand ve ark., 2012; Salmanzadeh, 2013; Peyman ve ark., 2014; Salmanzadeh ve ark., 2014; Masouri ve ark., 2017). Bağırsakta villus ile crypt morfolojisini belirlemek ve lûmen viskozitesinde azalma elde edilmektedir (Shakouri ve ark., 2009). Polisakkaritlerin yapımını belirlemekte (Beckmann ve ark., 2006; Qu ve ark., 2008), ayrıca tavuk sindirim sistemi mikro biyomu nitrojen metabolizma katkısında bulunmaktadır (Qu ve ark., 2008; Danzeisen ve ark., 2011).

İncebağırsak (duedonum) villus uzunluğu ve villus genişliklerinin ölçümlerine ilişkin mikroskopik fotoğraflar Şekil 6.1’de sunulmuştur.



Şekil 6.1. İncebağırsak (duedonum) vilus uzunluğu ve villus genişliğine ilişkin mikroskopik fotoğraflar

7. İncebağırsak (Duedonum) İçeriğine Ait Kalitatif Mikrobiyolojik Analizler (*Coliform spp*, *Salmonella spp*)

Yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen hümik asidin incebağırsak (*duedonum*) mikrobiyotası üzerine olan kalitatif etkileri Çizelge 7.1’de sunulmuştur.

Çizelge 7.1. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının incebağırsak (duedonum) mikrobiyotası (*coliform spp*, *salmonella spp*) üzerine kalitatif etkileri

Gruplar	Tekerrürler	<i>Koliform spp</i> Bakteri	<i>Salmonella spp</i> Bakteri
Kontrol* (<i>Hümik asit ilavesiz</i>)	Kontrol ₁	Yok	Var
	Kontrol ₂	Yok	Var
	Kontrol ₃	Yok	Var
I (%0,35 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	I ₁	Yok	Yok
	I ₂	Var	Var
	I ₃	Var	Yok
II (%0,45 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	II ₁	Yok	Yok
	II ₂	Var	Var
	II ₃	Yok	Yok
III (%0,55 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	III ₁	Var	Var
	III ₂	Var	Yok
	III ₃	Yok	Yok
IV (%0,65 <i>Hümik asit ilaveli</i>)	IV ₁	Yok	Yok
	IV ₂	Yok	Yok
	IV ₃	Yok	Yok

* Kontrol:Humik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Mikrobiyolojik analizler kalitatif olarak Var (+) veya Yok (-) şeklinde gerçekleştirildiği için istatistiksel analizler yapılamamıştır. Bu nedenle sonuçlar sübjektif olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol grubunun bütün tekerrürlerine ait besiyeri ekimlerinde *Coliform spp* görülmezken, diğer her üç tekerrürde de *Salmonella spp* gelişimi olmuştur.

I.grubun her üç tekerrüründe, *Coliform spp* iki tekerrürde görülmüş, bir tanesinde ise görülmemiştir. *Salmonella spp* ise 1 tekerrürde görülmüş, 2 tekerrürde görülmemiştir.

II.grubun her 3 tekerrüründe de *Coliform spp* ve *Salmonella spp* ise 1 tekerrürde görülmüş, 2 tekerrürde görülmemiştir.

III.grubun her 1 tekerrüründe *Salmonella spp* görülürken, 2 tekerrürde görülmemiş; *Coliform spp* ise 2 tekerrürde görülmüş, 1 tekerrürde görülmemiştir.

IV.grubun her 3 tekerrüründe de *Coliform spp* ve *Salmonella spp* gelişimi, görülmemiş.

Denemede % 0,65 hümik asit içeren IV.grupta hiç *Salmonella spp* ve *Coliform spp* gelişiminin olmaması, rasyona ilave edilen hümik asidin bu mikroorganizmalar üzerinde önemli bir baskı oluşturduğunu göstermektedir.

Öte yandan, daha düşük seviyelerde hümik asit içeren I, II ve III.gruplarda da *Salmonella spp* ve *Coliform spp* için kısmi bir baskının olduğu anlaşılmaktadır. Keza, farklı seviyelerde hümik asit içeren I ve II.gruplarda ve IV.gruplarda ise kısmi bir baskının bulunduğu görülmektedir. Hümik asit içermeyen Kontrol grubunda hiç *Coliform spp* gelişimi olmayıp, numunelerin hepsinde *Salmonella spp* gelişiminin olması; *Salmonella spp* ve *Coliform spp* gelişimini önemli seviyede baskıladığını düşündürmektedir.

EColi ve *Salmonella spp.* gibi patojenik mikroorganizmaların rasyona hümik asit eklenmesi ile azaldığını göstermektedir (Waseem Mirza ve ark., 2016).

Bu sonuçlara göre, hümik asit kullanımının duodenal mikrobiyota dağılımında subjektif olarak değişikliklere sebep olduğunu söylemek mümkün olabilir. Kanatlılarda bağırsak mikroflorası hayvan sağlığı ve ürün verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Kırkpınar ve Açıkgöz, 2003).

Hümik asit kanatlıların gastrointestinal sisteminde yaşayan bakterilere karşı inhibite yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (Simakova ve ark., 2021).

Sindirim sisteminde bulunan bazı simbiyotik ve kommensal mikroorganizmalar fermente ettikleri organik asitlerin ortam pH'sını dengeleyerek ve villus gelişimini teşvik ederek patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyebilmektedirler (Yasar ve ark., 2002; Dalkiliç, 2007).

Hümik asitlerin rasyona eklenmesi bağırsak pH'sını düşürür ve pepsinojenin pepsine dönüşümünü hızlandırır. Bu nedenle proteinlerin aminoasitlerin ve minerallerin absorpsiyonunu hızlandırır (Park ve ark., 2009).

Hümik asit, bağırsakta ideal pH oluşumunu sağladığı için kalsiyum ve çeşitli iz minerallerin faydalarını artırdığı ve patojen mikroorganizmaların büyümesini engellediği gösterilmiştir (Skinner ve ark., 1991; Islam ve ark., 2005).

Sağlıklı bir sindirim sisteminde mikro biyomun önemi Salmonella gibi patojenik bakterileri sınırlayabilir (Hudault ve ark., 1985).

İncebağırsak (*Duedonum*) *Coliform spp* gelişimine ait uygulama görseli **Şekil.7.1**'de ve *Salmonella spp* gelişimine ait uygulama görseli **Şekil.7.2**'de sunulmuştur.



Şekil 7.1. İncebağırsak (*Duedonum*) *coliform spp* gelişimine ait uygulama görseli



Şekil 7.2. İncebağırsak (*Duedonum*) *salmonella spp* gelişimine ait uygulama görseli

8. Serum İmmüoglobülin Analizleri

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının serum immüoglobülin-G (IgG), immüoglobülin-M (IgM) ve immüoglobülin-A (IgA) seviyelerine etkilerine ilişkin sonuçlar Çizelge 8.1’de ve istatistiksel analiz sonuçları Ek -6’da sunulmuştur.

Çizelge 8.1. Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının serum immünoglobülin G (IgG), immünoglobülin M (IgM) ve immünoglobülin A (IgA) seviyelerine etkileri

Rasyonlar	IgG (mg/ml)	IgM (mg/ml)	IgA (mg/ml)
Kontrol** (<i>Hümik asit ilavesiz</i>)	3,760±0,040	1,150±0,049 ^{a*}	0,385±0,035
I (<i>%0,35 Hümik asit ilaveli</i>)	4,200±0,400	0,780±0,020 ^{bc}	0,440±0,069
II (<i>%0,45 Hümik asit ilaveli</i>)	4,075±0,134	0,730±0,029 ^c	0,390±0,090
III (<i>%0,55 Hümik asit ilaveli</i>)	4,200±0,099	0,855±0,014 ^{bc}	0,410±0,090
IV (<i>%0,65 Hümik asit ilaveli</i>)	3,785±0,114	0,910±0,006 ^b	0,395±0,045
<i>P değeri</i>	<i>0,425</i>	<i>0,01</i>	<i>0,977</i>

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,001$).

** Kontrol: Hümik asit ilavesiz; I: %0,35 Hümik asit; II: %0,45 Hümik asit; III: %0,55 Hümik asit; IV: %0,65 Hümik asit

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının serum immünoglobülin G (IgG) ve immünoglobülin A (IgA) seviyelerine etkilerine ilişkin olarak grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Kontrol, I, II, III ve IV. grupların Ig-G seviyeleri sırasıyla 3,760 mg/ml, 4,200 mg/ml, 4,075 mg/ml, 4,200 mg/ml ve 3,785 mg/ml olarak gerçekleşmiştir. En yüksek Ig-G seviyesi I (*%0,35 hümik asit ilaveli*) ve III (*%0,55 hümik asit ilaveli*) gruplarında (sırasıyla 4,200 mg/ml ve 4,200 mg/ml), en düşük Ig-G seviyesi ise Kontrol grubunda (*hümik asit ilavesiz*) (3,760 mg/ml) kaydedilmiştir.

Kontrol, I, II, III ve IV. grupların Ig-A seviyeleri sırasıyla 0,385 mg/ml, 0,440 mg/ml, 0,390 mg/ml, 0,410 mg/ml ve 0,395 mg/ml olarak gerçekleşmiştir. En yüksek Ig-A seviyesi I. grupta

(%0,35 hümik asit ilaveli) (0,440 mg/ml), en düşük Ig-G seviyesi ise Kontrol grubunda (*hümik asit ilavesiz*) (0,385 mg/ml) kaydedilmiştir.

Farklı seviyelerde hümik asit içeren rasyonların yaşlı yumurta tavuklarının serum immünoglobülin M (IgM) seviyelerine etkilerine ilişkin olarak grup ortalamaları arasında gözlemlenen farklılıklar ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,001$).

IgM bakımından Kontrol grubu ile diğer bütün gruplar (I, II, III ve IV.gruplar) arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P<0,01$); I, III ve IV.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar önemsiz; II ve IV.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar önemli ($P<0,01$); I, II ve III.grup ortalamaları arasındaki farklılıklar ise önemsiz bulunmuştur.

En yüksek IgM seviyesi Kontrol grubunda (*hümik asit ilavesiz*) (1,150 mg/ml), en düşük IgM seviyesi ise II. grupta (*%0,45 Hümik asit ilaveli*) (0,730 mg/ml) kaydedilmiştir.

Serum IgG, IgM ve IgA seviyeleri hümorale bağışıklık sisteminin önemli göstergelerindedir (Carsetti ve ark., 2004). İmmünglobulin A (IgA) vücut mukoza zarlarını korumak için salgılanan antikorlardır ve solunum yolları, bağırsaklar ve diğer mukozal yüzeylerde bulunurlar. IgA testi, mukozal bağışıklık sistemi ile ilgili durumların değerlendirilmesinde kullanılır. Özellikle bağırsak hastalıkları, bağırsak sendromları ve bazı alerjik reaksiyonların teşhisinde önemli olabilir. İmmünglobulin G (IgG), en yaygın antikor sınıfıdır ve vücutta uzun süreli bağışıklık sağlama görevine sahiptir. IgG testi, bağışıklık sisteminin geçmişte maruz kaldığı enfeksiyonlara veya aşılamalara karşı ne kadar koruyucu antikor ürettiğini değerlendirmek için yapılır. Kronik enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve alerjiler gibi durumların teşhis ve yönetiminde kullanılabilir. İmmünglobulin M (IgM), yeni bir enfeksiyonla karşılaşıldığında hızla üretilen antikorlardır ve genellikle enfeksiyonun erken döneminde yüksek seviyelerde bulunur. IgM testi, aktif bir enfeksiyonun veya akut bir durumun varlığını belirlemeye yardımcı olabilir. Özellikle viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı pratik öneme sahiptirler (Carsetti ve ark., 2004). (Lammers ve ark., 2010) yumurta tavuklarında yaşlanma ve enfeksiyon hastalık riski altında serum IgA, IgG ve IgM seviyelerinde ani yükselmeler olabileceğini bildirmişlerdir.

Deneme sonucunda özellikle hümik asit içermeyen Kontrol grubunda IgM seviyesinin hümik asit içeren diğer gruplardan önemli seviyede yüksek bulunması, bir enfeksiyonla karşılaşıldığını göstermektedir. Ancak, hümik asit içeren gruplardaki tavukların Kontrol grubundakiler kadar yüksek IgM antikorunu üretememiş olmaları hümik asidin enfeksiyon etkilerinin giderilerek bağışıklık sistemine önemli katkı sağlamış olduğunu göstermektedir.

(Nowak ve ark., 1982) yumurta tavuklarında yaşa bağlı olarak IgG seviyesinin artış olabileceğini, herhangi bir enfeksiyon durumunda bu artışın daha da yükselebileceğini bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz deneme bulgularıyla bu durumun açıkça örtüştüğünü söyleyebilmek mümkündür. (Maguey-Gonzalez ve ark., 2018) rasyonlara %0.10-0.20 seviyelerinde hümik asit ilavesinin IgA'nın toplam konsantrasyonunu etkilemediğini bildirmişlerdir. Denemede IgA sonuçları bakımından grup ortalamaları arasındaki farklılıkların önemsiz çıkmış olması bu durumu teyit ediyor gibi gözükmektedir. Öte yandan, (Mudroňová ve ark., 2020) kanatlı rasyonlarına hümik asit ilavesinin IgA seviyesini önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Bazı çalışmalarda hümik asit yumurta tavuklarında immünoglobulin seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır (Zhang ve ark., 2020).

Deneme bulgularına göre, serum IgA seviyeleri bakımından grup ortalamaları arasındaki farklılıkların önemsiz olması bu sonuçla çelişmektedir. (Zhang ve ark., 2020) yumurta tavuğu rasyonlarına hümik asit ilavesinin serum IgG ve IgM seviyelerini önemli ölçüde artırdığını rapor etmişlerdir. Serum IgG, IgM ve IgA seviyeleri hümoral bağışıklık sisteminin önemli göstergeleridir (Carsetti ve ark., 2004). Yumurta tavuklarında yaşa bağlı olarak IgG hücrelerinin sayısı artar ve bunda bursa fabrikus ve timüs bezleri önemli roller üstlenirler (Nowak ve ark., 1982; Lammers ve ark., 2010).

Burgess ve Davison (1999) immünoglobülinlerin en önemli kaynakları olan B ve T hücrelerinin tavuklarda yaşla birlikte artmaya başladığını bildirmişlerdir. Yumurta tavuklarında farklı dozlarda antikor uygulamasından sonra, B hücrelerinin aktivasyonuna bağlı olarak serum IgM ve IgG düzeyleri yükselmiştir (Salah ve ark., 2015; Mudroňová ve ark., 2021). Yumurta tavuklarında yumurta üretiminin başlamasıyla birlikte çevresel ve içsel faktörlere bağlı olarak

immünoglobülin konsantrasyonlarında artışlar olabilmektedir (Wigley ve ark., 2005; Johnston ve ark., 2012).

Mudroňová ve ark. (2020) yemlere hümik asit ilavesinin serum IgA konsantrasyonunu önemli seviyede arttırdığını gözlemlemiştir. IgA'nın en önemli rolü, farklı yollarla kana ulaşmış olan antijenleri kendine bağlayarak onları etkisiz hale getirmektir (Herich, 2017). (Rath ve ark., 2006) kanatlı rasyonlarına %0,10 seviyesinde hümik asit ilave edildiğinde dalağın, %0,20 seviyesinde hümik asit eklendiğinde bursa fabrikusun ve %0,40 seviyesinde hümik asit ilave edildiğinde ise timusun önemli seviyede büyüdüğünü kaydetmişlerdir. Kanatlı rasyonlarına ilave edilen hümik asidin eritrosit sayısını ve hemoglobin konsantrasyonunu arttırarak bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (Çetin, 2006).

Hümik asidin yapısında bulunan mineraller taşıyan bir bağlayıcıdır, hayvanların bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalıklara karşı dirençlerini artırır (Nordstrom ve ark., 1996).

Mevcut deneme bulgularının bazı literatür sonuçlarıyla kısmen uyumlu olduğu görülmektedir. Çelişkili sonuçların sebebi; uygulanan hümik asit çeşitlerinin farklı kaynaklardan sağlanmış olması, hayvan yaşlarının örtüşmemesi, farklı çevre ve barındırma şartlarının etkili olması gibi değişik faktörlere atfedilebilir.

9. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına farklı seviyelerde ilave edilen leonardit bazlı hümik asidin (Bazal rasyona %0,35; %0,45, %0,55; %0,65 hümik asit ilave edilmiştir.) verim parametreleri (yumurta verimi, yumurta kitlesi, yem tüketimi, yumurta ağırlığı, yem değerlendirme katsayısı), yumurta kabuk kalite özellikleri (yumurta kabuk kırılma direnci, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk özgül ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranı), ince bağırsak (duodenum; onikiparmak bağırsağı) villus histomorfolojisi (villus genişliği, villus uzunluğu) ve serum immünoglobülin seviyelerine (IgG, IgM, IgA) etkilerini belirlemek için yürütülen bu denemeden elde edilen sonuçlara göre aşağıdaki önerilerde bulunulabilir:

- Yaşlı ticari yumurta tavuklarında hümik asit kullanımı, ekonomik olarak avantajlar sağlamış ve hayvanların daha uzun süre üretimde kullanılabilmelerine imkan tanımıştır. Farklı seviyelerde hümik asit ilavesi hem verim özelliklerinde hem de sindirim sistemi fizyolojisi ve doğal bağışıklık mekanizmaları üzerine kısmen olumlu katkılarda bulunmuştur. Bu konuda gerçekleştirilecek daha kapsamlı ve detaylı araştırmalarla, yaşlı ticari yumurta tavuğu hatları için önerilebilecek farklı hümik asit kullanım dozları ve değişik hümik asit kaynakları gündeme gelebilir.
- Sübjektif değerlendirmelere göre yaşlı yumurta tavuğu rasyonlarına %0,35- 0,45 seviyelerinde hümik asit ilavesi önerilebilir.
- Hümik asit ilavesinin yaşlı yumurta tavuklarında verim performansı üzerindeki etkileri, doz ve kullanılan kaynaklara bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu bulgu, kullanılan hümik asit seviyesinin hayvan materyalinin (ırk ve yaş açısından) özelliklerine göre değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Yaşlı yumurta tavukları için kullanılan hümik asit dozlarının, yaş ve genetik özelliklere uygun olacak şekilde optimize edilmesi gereklidir. Bu hem verim performansını artırabilir hem de hayvan sağlığını destekleyebilir. Çalışmanın bulguları, yaşlı yumurta tavukları için farklı uygulama dozlarının ve spesifik hümik asit kaynaklarının geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir.
- Hümik asitlerin biyolojik etkinliği, kullanılan hammadde, üretim süreci ve depolama koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu farklılıkların, hümik asitlerin etkinliğini etkileyen önemli unsurlar olduğu değerlendirilmiştir.

- Yaşlı yumurta tavukları için kullanılan hümik asit dozlarının ve tavuk yaşının dikkate alınarak tekrar gözden geçirilip modifiye edilmesi daha sağlıklı kararlar verilmesini mümkün kılabilir.
- Humat grubu organik bileşikler saf olmayıp, bileşimleri elde edildikleri hammaddeye, uygulanan kimyasal prosedüre, depolama şartlarına göre önemli değişiklikler gösterebilmektedir. Bu nedenle, birbirlerinden oldukça farklı biyolojik etkinliğe sahip olabilirler. Konuya ilişkin bilimsel araştırmalarda farklı sonuçların elde edilmiş olması söz konusu faktörlerden kaynaklanmış olabilir.



KAYNAKLAR

- Abd El-Hack, M. E. ve Alagawany, M., 2015, Performance, egg quality, blood profile, immune function, and antioxidant enzyme activities in laying hens fed diets with thyme powder, *J. Anim. Feed Sci*, 24 (2), 127-133.
- Abdelqader, A., Irshaid, R. ve Al-Fataftah, A.-R., 2013, Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production, *Tropical Animal Health and Production*, 45, 1017-1024.
- Abdi, E., Babapour, S., Majnounian, B., Amiri, G. Z. ve Deljouei, A., 2018, How does organic matter affect the physical and mechanical properties of forest soil?, *Journal of Forestry Research*, 29, 657-662.
- Abdou, G., 1993, Performance of hens laying eggs with heavy or light shell weight when fed diets with different calcium and phosphorus levels, *Poultry Science*, 72, 1881-1891.
- Akbaş, Y., Altan, Ö. ve Koçak, Ç., 1996, Tavuk yaşının tavuk yumurtasının iç ve dış kalite özellikleri üzerine etkileri, *Türk Vet. Hay. Derg*, 20, 445-460.
- Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Sachan, S., Karthik, K. ve Dhama, K., 2018, The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition, *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 10611-10618.
- Ansorg, R. ve Rochus, W., 1978, Studies on the antimicrobial effect of natural and synthetic humic acids (author's transl), *Arzneimittel-Forschung*, 28 (12), 2195-2198.
- Apajalahti, J., 2005, Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities, *Journal of Applied Poultry Research*, 14 (2), 444-453.
- Arafat, R. Y., Khan, S. H., Abbas, G. ve Iqbal, J., 2015, Effect of dietary humic acid via drinking water on the performance and egg quality of commercial layers, *American Journal of Biology and Life Sciences*, 3 (2), 26-30.
- Arafat, R. Y. ve Khan, S. H., 2017, Evaluation of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens, *Annals of Animal Science*, 17 (1), 241.
- Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M., Saeed, M., Arain, M. ve Elnesr, S., 2019, Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review, *Iranian Journal of Veterinary Research*, 20 (3), 167.
- Arpášová, H., Kačaniová, M., Pistová, V., Gálik, B., Fik, M. ve Hleba, L., 2016, Effect of Probiotics and Humic Acid on Egg Production and Quality Parameters of Laying Hens Eggs, *Scientific Papers: Animal Science & Biotechnologies/Lucrari Stiintifice: Zootehnie si Biotehologii*, 49 (2).
- Atasoy, F., Onbaşlar, E. E. ve Apaydın, S., 2001, Denizli ve Ticari Tavuk Sürülerinde Yumurta Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 41 (2).
- Awad, W., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S. ve Böhm, J., 2009, Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens, *Poultry Science*, 88 (1), 49-56.
- Ay, F., 2015, Hüyük asit ve hüyük asit kaynaklarının jeolojik ve ekonomik önemi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD)*, 36 (1), 28-51.

- Bailey, C., White, K. ve Donke, S., 1996, Evaluation of menefeehumate TM on the performance of broilers, *Poultry Science*, 75 (Suppl 1), 84.
- Ball, A., 2000, The new source in poultry feeding after the ban of growth promoters. 5, *5th International Feed Congress and Exhibition. Antalya*, 87-93.
- Banaszkiewicz, W. ve Drobnik, M., 1994, The influence of natural peat and isolated humic acid solution on certain indices of metabolism and of acid-base equilibrium in experimental animals, *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 45 (4), 353-360.
- Beckmann, L., Simon, O. ve Vahjen, W., 2006, Isolation and identification of mixed linked β -glucan degrading bacteria in the intestine of broiler chickens and partial characterization of respective 1, 3-1, 4- β -glucanase activities, *Journal of Basic Microbiology*, 46 (3), 175-185.
- Burdon, J., 2001, Are the traditional concepts of the structures of humic substances realistic?, *Soil Science*, 166 (11), 752-769.
- Burgess, S. ve Davison, T., 1999, Counting absolute numbers of specific leukocyte subpopulations in avian whole blood using a single-step flow cytometric technique: comparison of two inbred lines of chickens, *Journal of Immunological Methods*, 227 (1-2), 169-176.
- Buss, E., 1982, Genetic differences in avian egg shell formation, *Poultry Science*, 61 (10), 2048-2055.
- Campbell, C., Schnitzer, M. ve Khan, S., 1978, Soil organic matter, Elsevier.
- Carrique-Mas, J., Bedford, S. ve Davies, R., 2007, Organic acid and formaldehyde treatment of animal feeds to control Salmonella: efficacy and masking during culture, *Journal of Applied Microbiology*, 103 (1), 88-96.
- Carsetti, R., Rosado, M. M. ve Wardmann, H., 2004, Peripheral development of B cells in mouse and man, *Immunological Reviews*, 197 (1), 179-191.
- Caspary, W. F., 1992, Physiology and pathophysiology of intestinal absorption, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55 (1), 299S-308S.
- Ceylan, N., Çiftçi, İ., Kahraman, Z. ve Mızrak, C., 2003, Yumurta tavuğu yemlerinde humat bileşikler (Farmagülatör Dry Plus) kullanımının performans, yumurta kalitesi ve bağırsak mikroflorası üzerine etkileri. II. *Ulusal Hayvan Besleme Kongresi*, 163, 167.
- Ceylan, T. ve Ünal, M. A., 2020, Patoloji ve histoloji laboratuvarı uygulama kitabı, Kapadokya Üniversitesi Yayınları, p.
- Çelebi, Ş., 2019, Değişik Seviyelerde Humat İçeren Rasyonların ve Canlı Ağırlığın Yumurtacı Tavuklarda Performans ve Yumurta Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (3), 299-304.
- Çelikkilek, A., Deniz, G., Orman, A., Gençoglu, H. ve Çağdaş, K., 2014, Effects of a combination of dietary organic acid blend and oregano essential oil (Lunacompacid® Herbex Dry) on the performance and Clostridium perfringens proliferation in the ileum of broiler chickens, *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 8 (22).
- Çetin, N., 2006, Yumurta tavuklarında rasyona ilave edilen humat ve organik asitlerin bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 53 (3), 165-168.
- Çetin, S. ve Gürcan, İ. S., 2006, Kahverengi ve Beyaz Yumurtacı Hibrit Tavuk Yemlerine İstiridye Kabuğu İlavesinin Yumurta Kabuk Kalitesine VE Serum Kalsiyum Düzeyine Etkileri, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 46 (2), 23-31.

- Danzeisen, J. L., Kim, H. B., Isaacson, R. E., Tu, Z. J. ve Johnson, T. J., 2011, Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment, *PLoS ONE*, 6 (11), e27949.
- Davies, G., Ghabbour, E. A. ve Steelink, C., 2001, Humic acids: Marvelous products of soil chemistry, *Journal of Chemical Education*, 78 (12), 1609.
- De Leer, E. W., Damste, J. S. S., Erkelens, C. ve De Galan, L., 1985, Identification of intermediates leading to chloroform and C-4 diacids in the chlorination of humic acid, *Environmental Science & Technology*, 19 (6), 512-522.
- Dhama, K., Latheef, S. K., Mani, S., Samad, H. A., Karthik, K., Tiwari, R., Khan, R. U., Alagawany, M., Farag, M. R. ve Alam, G. M., 2015, Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production-a review, *International Journal of Pharmacology*, 11 (3), 152-176.
- Disetlthe, A., Marume, U., Mlambo, V. ve Dinev, I., 2017, Humic acid and enzymes in canola-based broiler diets: Effects on bone development, intestinal histomorphology and immune development, *South African Journal of Animal Science*, 47 (6), 914-922.
- Dobrzański, Z., Trziszka, T., Herbut, E., Krawczyk, J. ve Tronina, P., 2009, Effect of humic preparations on productivity and quality traits of eggs from Greenleg Partridge hens, *Annals of Animal Science*, 9 (2), 165-174.
- Du, Q., Zhang, S., Song, J., Zhao, Y. ve Yang, F., 2020, Activation of porous magnetized biochar by artificial humic acid for effective removal of lead ions, *Journal of Hazardous Materials*, 389, 122115.
- Duncan, D., Bodle, W. ve Banerjee, D., 1981, Production of liquid fuels from biomass by the HYFLEX process, *Symposium Papers. Energy from biomass and wastes V. Lake Buena Vista, Florida, January 26-30, 1981*, 917-936.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., 1987, Araştırma ve deneme metotları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1021, 1-381.
- Eleroğlu, H., Yıldırım, A. ve Şekeroğlu, A., 2014, Organik tavukçulukta mera kompozisyonu, besleme ve barındırma teknikleri, *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 11 (1), 21-27.
- Eren, M., Gezen, S., Deniz, G. ve Orhan, F., 2008, Effects of liquid humate supplemented to drinking water on the performance and eggshell quality of hens in different laying periods, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 159 (2), 91.
- Ergin, O., Isa, C., Nuh, O. ve Guray, E., 2009, Effects of dietary humic substances on egg production and egg shell quality of hens after peak laying period, *African Journal of Biotechnology*, 8 (6).
- Farrimond, P., 1994, Engel MH, & Macko SA,(eds) 1993. Organic Geochemistry. Principles and Applications. xxiii+ 861 pp. New York, London: Plenum Press. Price US \$79.50 (hard covers). ISBN 0 306 44378 3, *Geological Magazine*, 131 (5), 703-703.
- Freter, R., Brickner, H., Botney, M., Cleven, D. ve Aranki, A., 1983, Mechanisms that control bacterial populations in continuous-flow culture models of mouse large intestinal flora, *Infection and Immunity*, 39 (2), 676-685.
- Fuller, R., 1984, Microbial activity in the alimentary tract of birds, *Proceedings of the Nutrition Society*, 43 (1), 55-61.
- Supplementation with organics acids in diet of laying hens, *Ciencia Rural*, 30, 499-502.
- Gamboa, C. ve Olea, A., 2006, Colloids and Surfaces A: Physicochem, *Eng. Aspects*, 278, 241-245.

- Gancarčíková, S., Nemcová, R., Popper, M., Hřčková, G., Sciranková, L., Maďar, M., Mudroňová, D., Vilček, Š. ve Žitňan, R., 2019, The influence of feed-supplementation with probiotic strain *Lactobacillus reuteri* CCM 8617 and alginite on intestinal microenvironment of SPF mice infected with *Salmonella typhimurium* CCM 7205, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 493-508.
- García, M., Collado, S., Oulego, P. ve Díaz, M., 2020, The wet oxidation of aqueous humic acids, *Journal of Hazardous Materials*, 396, 122402.
- Gaskins, H., Collier, C. ve Anderson, D., 2002, Antibiotics as growth promotants: mode of action, *Animal Biotechnology*, 13 (1), 29-42.
- Ghahri, H., Habibian, R. ve Fam, M. A., 2010, Effect of sodium bentonite, mannan oligosaccharide and humate on performance and serum biochemical parameters during aflatoxicosis in broiler chickens, *Global Veterinaria*, 5 (2), 129-134.
- Ghasemi, H., Akhavan-Salamat, H., Hajkhodadadi, I. ve Khaltabadi-Farahani, A., 2014, Effects of dietary organic acid blend supplementation on performance, intestinal morphology and antibody-mediated immunity in broiler chickens, *Acta Advances in Agricultural Sciences*, 2 (10), 64-74.
- Goel, P. ve Dhingra, M., 2021, Humic substances: Prospects for use in agriculture and medicine, *Intech Open: London, UK*, 1-21.
- Gomez-Rosales, S. ve Angeles, M. d. L., 2015, Addition of a worm leachate as source of humic substances in the drinking water of broiler chickens, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28 (2), 215.
- González, S., Fernández-Lorente, M. ve Gilaberte-Calzada, Y., 2008, The latest on skin photoprotection, *Clinics in Dermatology*, 26 (6), 614-626.
- Griggs, J. ve Jacob, J. P., 2005, Alternatives to antibiotics for organic poultry production, *Journal of Applied Poultry Research*, 14 (4), 750-756.
- Hamilton, R., 1982, Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality, *Poultry Science*, 61 (10), 2022-2039.
- Hamman, B., Koning, G. ve Van De Venter, H., 1999, Cell-wall extension as a mode of action of coal-derived humates, *South African Journal of Botany*, 65 (3), 197-202.
- Hayakawa, M. ve Nonomura, H., 1987, Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes, *Journal of Fermentation Technology*, 65 (5), 501-509.
- Hayirli, A., Esenbuğa, N., Macit, M., Yörük, M., Yıldız, A. ve Karaca, H., 2005, Nutrition practice to alleviate the adverse effects of stress on laying performance, metabolic profile and egg quality in peak producing hens: II. The probiotic supplementation, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18 (12), 1752-1760.
- Herich, R., 2017, Is the role of IgA in local immunity completely known?, *Food and Agricultural Immunology*, 28 (2), 223-237.
- Hooge, D. M., 2004, Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003, *Int. J. Poult. Sci*, 3 (3), 163-174.
- Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M. ve Kamyab, A., 2012, Effects of non-antibiotic feed additives on performance, immunity and intestinal morphology of broilers fed different levels of protein, *South African Journal of Animal Science*, 42 (1), 23-32.
- Hricíková, S., Kožárová, I., Hudáková, N., Reitznerová, A., Nagy, J. ve Marcinčák, S., 2023, Humic Substances as a Versatile Intermediary, *Life*, 13 (4), 858.

- Huck, J., Porter, N. ve Bushell, M., 1991, Effect of humates on microbial activity, *Journal of General Microbiology*, 137, 2321-2329.
- Hudault, S., Bewa, H., Bridonneau, C. ve Raibaud, P., 1985, Efficiency of various bacterial suspensions derived from cecal floras of conventional chickens in reducing the population level of *Salmonella typhimurium* in gnotobiotic mice and chicken intestines, *Canadian Journal of Microbiology*, 31 (9), 832-838.
- Hurnik, J., Summers, J., Reinhart, B. ve Swierczewska, E., 1977, Effect of age on the performance of laying hens during the first year of production, *Poultry Science*, 56 (1), 222-230.
- Ipek, H., Avci, M., Iriadam, M., Kaplan, O. ve Denek, N., 2008, Effects of humic acid on some hematological parameters, total antioxidant capacity and laying performance in Japanese quails, *Archiv fur Geflugelkunde*, 72 (2), 56-60.
- Islam, K., Schuhmacher, A., Aupperle, H. ve Gropp, J., 2008, Fumaric acid in broiler nutrition: a dose titration study and safety aspects, *Int. J. Poult. Sci*, 7 (9), 903-907.
- Islam, K. M. S., Schuhmacher, A. ve Gropp, J., 2005, Humic acid substances in animal agriculture, *Pakistan Journal of Nutrition*, 4 (3), 126-134.
- Jeurissen, S., Lewis, F., van der Klis, J. D., Mroz, Z., Rebel, J. ve Ter Huurne, A., 2002, Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality, *Current Issues In Intestinal Microbiology*, 3 (1), 1-14.
- Johnston, C. E., Hartley, C., Salisbury, A.-M. ve Wigley, P., 2012, Immunological changes at point-of-lay increase susceptibility to *Salmonella enterica* Serovar enteritidis infection in vaccinated chickens, *PLoS ONE*, 7 (10), e48195.
- Kara, K., Sarıözkan, S., Konca, Y. ve Güçlü, B. K., 2012, Bildirem (*Coturnix coturnix japonica*) karma yemlerine humat ilavesinin besi performansı ve gelire etkisi, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 83 (2), 17-24.
- Karaoglu, M., Macit, M., Esenbuga, N., Durdag, H., Turgut, L. ve Bilgin, O. C., 2004, Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance, slaughter and carcass traits of broilers, *International Journal of Poultry Science*, 3 (6), 406-410.
- Kelting, M., Harris, J. R., Fanelli, J. ve Appleton, B., 1998, Biostimulants and soil amendments affect two-year posttransplant growth of red maple and Washington hawthorn, *HortScience*, 33 (5), 819-822.
- Kırkpınar, F. ve Açıkgöz, Z., 2003, Kanatlı hayvanlarda nişasta tabiyatında olmayan polisakkaritlerin sindirim sistemi mikroflorası üzerine etkileri, *Hayvansal Üretim*, 44 (2).
- Kocabağlı, N., Alp, M., Acar, N. ve Kahraman, R., 2002, The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield, *Poultry Science*, 81 (2), 227-230.
- Koçak, Y. R. ve Özaydın, T., 2019, Kanatlı Sindirim Sisteminin Fonksiyonel Histolojisi, *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12 (2), 157-162.
- Koehn, F. E., 2008, High impact technologies for natural products screening, *Natural Compounds As Drugs, Volume I*, 175-210.
- Korsakov, K., Vasiliev, A., Moskalenko, S., Sivokhina, L. ve Kuznetsov, M. Y., 2018, Efficiency of using the Reasil Humic vet feed additive in broiler chicken farming, *International Journal of Engineering and Technology (UAE)*, 7 (4), 281-283.
- Kreutz, B. ve Schlikekewey, W., 1992, Effects of implanted bovine calcium hydroxyapatite with humate, *Arch. Orthop. Trauma Surg*, 111 (5), 259-264.

- Kucukersan, S., Kucukersan, K., Colpan, I., Goncuoglu, E., Reisli, Z. ve Yesilbag, D., 2005a, The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen, *Vet. Med. Czech*, 50 (9), 406-410.
- Kucukersan, S., Kucukersan, K., Colpan, I., Goncuoglu, E., Reisli, Z. ve YEŞİLBAĞ, D., 2005b, The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen, *Veterinari Medicina*, 50 (9).
- Kujawinski, E. B., Hatcher, P. G. ve Freitas, M. A., 2002, High-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry of humic and fulvic acids: improvements and comparisons, *Analytical chemistry*, 74 (2), 413-419.
- Küçükersan, S., Küçükersan, K., Göncüoğlu, E. ve Şahin, T., 2003, Yumurta tavuğu rasyonlarına ilave edilen humatların yumurta verimi ve kalitesine etkisi. *II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi*, 168, 173.
- Kühnert, V., Fuchs, V. ve Golbs, S., 1989, Pharmakologishtoxikologische eigenshaften huminsäuren und ihre wirkungsprofile für eine veterinarmedizinische therapie, *Deutsche Tierärztl. Wschr*, 96, 3-10.
- Kühnert, V., Bartels, K., Kröll, S. ve Lange, N., 1991, Huminsäurehaltige tierarzneimittel in therapie and prophylaxe bei gastrointestinalen erkrankungen von hund und katze, *Monatshefte Vet*, 46, 4-8.
- Lala, A., Kwelum, N., So, A., Ajao, A. ve Degbenjo, A., 2017, Response of broiler chickens to varying dosage of humic acid in drinking water, *National Animal Production Research Institute*, 29 (1), 288-294.
- Lamichhane, A., Azegami, T. ve Kiyono, H., 2014, The mucosal immune system for vaccine development, *Vaccine*, 32 (49), 6711-6723.
- Lammers, A., Wieland, W. H., Kruijt, L., Jansma, A., Straetemans, T., Schots, A., den Hartog, G. ve Parmentier, H. K., 2010, Successive immunoglobulin and cytokine expression in the small intestine of juvenile chicken, *Developmental & Comparative Immunology*, 34 (12), 1254-1262.
- Laub, R., 2000, Laub developing humate with anti-HIV, HSV, HPV and other antiviral activity, *Biotechnology Information Institute, February*, 12 (2).
- Leenheer, J., Brown, G., MacCarthy, P. ve Cabaniss, S., 1998, Models of metal binding structures in fulvic acid from the Suwannee River, Georgia, *Environmental science & technology*, 32 (16), 2410-2416.
- Lenk, V. ve Benda, A., 1989, Torfpaste-ein huminsäurehaltiges tiergesundheitspflegemittel zur vorbeuge und behandlung von durchfallerkrankungen der kälber, *Monatshefte Vet*, 44, 563-565.
- Liu, J., Fan, J., He, T., Xu, X., Ai, Y., Tang, H., Gu, H., Lu, T., Liu, Y. ve Liu, G., 2020, The mechanism of aquatic photodegradation of organophosphorus sensitized by humic acid-Fe³⁺ complexes, *Journal of Hazardous Materials*, 384, 121466.
- Loddi, M., Nakaghi, L., Edens, F., Tucci, F., Hannas, M., Moraes, V. ve Arika, J., 2002, Mannanligosaccharides and organic acids effect on intestinal morphology integrity of broilers evaluated by scanning electron microscopy, *Proceedings of the 11th European Poultry Science Conference, Bremen, Germany*, 121.
- Loh, T. C., Thanh, N. T., Foo, H. L., HAIR-BEJO, M. ve Azhar, B. K., 2010, Feeding of different levels of metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, fecal microflora, volatile fatty acids and villi height in broilers, *Animal Science Journal*, 81 (2), 205-214.

- Lokapirnasari, W. P., Al-Arif, M. A., Hidayatik, N., Safiranisa, A., Arumdani, D. F., Zahirah, A. I., Yulianto, A. B., Lamid, M., Marbun, T. D. ve Lisnanti, E. F., 2024, Effect of probiotics and acidifiers on feed intake, egg mass, production performance, and egg yolk chemical composition in late-laying quails, *Veterinary World*, 17 (2), 462.
- López-García, Y., Gómez Rosales, S. ve Angeles, M., 2021, Efecto de la adición de sustancias húmicas sobre la histología y número de células caliciformes en la mucosa intestinal de pollos de engorda, *LVI Reunión Nacional de investigación pecuaria (RNIP)*, 10-12.
- Luykx, R., 1994, Effects of genotype, age and storage on egg characteristics and hatchability in broiler breeders, *Proceedings of the 9th European Poultry Conference*, 405-406.
- Macit, M., Celebi, S., Esenbuga, N. ve Karaca, H., 2009, Effects of dietary humate supplementation on performance, egg quality and egg yolk fatty acid composition in layers, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (2), 315-319.
- Maguey-González, J. A., Gómez-Rosales, S., de Lourdes Angeles, M., López-Hernández, L. H., Rodríguez-Hernández, E., Solís-Cruz, B., Hernández-Patlán, D., Merino-Gúzman, R. ve Téllez-Isaías, G., 2022, Effects of humic acids on the recovery of different bacterial strains in an in vitro chicken digestive model, *Research in Veterinary Science*, 145, 21-28.
- Maguey-Gonzalez, J. A., Michel, M. A., Baxter, M. F., Tellez Jr, G., Moore Jr, P. A., Solis-Cruz, B., Hernández-Patlan, D., Merino-Guzman, R., Hernandez-Velasco, X. ve Latorre, J. D., 2018, Effect of humic acids on intestinal viscosity, leaky gut and ammonia excretion in a 24 hr feed restriction model to induce intestinal permeability in broiler chickens, *Animal Science Journal*, 89 (7), 1002-1010.
- Makkink, C., 2001, Acid binding capacity in feedstuffs, *Feed International*, 22 (10), 24-27.
- Mao, Y., 2019, Modulation of the growth performance, meat composition, oxidative status, and immunity of broilers by dietary fulvic acids, *Poultry Science*, 98 (10), 4509-4513.
- Marcin, A., Nadř, P., Skalická, M., Bujňák, L. ve Gancarčíková, S., 2021, Effect of humic acid substances on proteolytic activity in intestine, digestibility of crude protein and protein content in the blood of broiler chickens, *Magnesium*, 2 (3.06), 3.11.
- Masouri, L., Salari, S., Sari, M., Tabatabaei, S. ve Masouri, B., 2017, Effect of feed supplementation with *Satureja khuzistanica* essential oil on performance and physiological parameters of broilers fed on wheat-or maize-based diets, *British Poultry Science*, 58 (4), 425-434.
- Mayhew, L., 2004, Humic substances in biological agriculture, *Acres*, 34, 54-61.
- Mayor, O., 1968, Histopathological aids to the diagnosis of certain poultry diseases, *Vet. Bull.*, 38, 273-285.
- Maysa, H. ve Sheikh, A., 2008, The effect of dietary humic acid supplementation on some productive and physiological traits of laying hens, *Egypt Poultry Science*, 28 (4), 1043-1058.
- Mead, G., 1989, Microbes of the avian cecum: types present and substrates utilized, *Journal of Experimental Zoology*, 252 (S3), 48-54.
- Metges, C. C., 2000, Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host, *The Journal of Nutrition*, 130 (7), 1857S-1864S.
- Metzger, L., 2003, Humic and fulvic acids: The black gold of agriculture?, *New AG International*, 2003, 22-35.
- Mudroňová, D., Karaffová, V., Pešulová, T., Koščová, J., Maruščáková, I. C., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Ševčíková, Z. ve Marcinčák, S., 2020, The effect of humic substances

- on gut microbiota and immune response of broilers, *Food and Agricultural Immunology*, 31 (1), 137-149.
- Mudroňová, D., Karaffová, V., Semjon, B., Naď, P., Koščová, J., Bartkovský, M., Makiš, A., Bujňák, L., Nagy, J. ve Mojžišová, J., 2021, Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens, *Agriculture*, 11 (8), 744.
- Musumeci, G., 2014, Past, present and future: overview on histology and histopathology, *J Histol Histopathol*, 1 (5), 1-3.
- Naukkarinen, A. ve Hippeläinen, M., 1989, Effects of antigen and antigen concentration on serum antibody titres in chickens primed per bursam, *APMIS*, 97 (7-12), 793-797.
- Nicholson, L. B., 2016, The immune system, *Essays in biochemistry*, 60 (3), 275-301.
- Nordstrom, D., May, H. ve Sposito, G., 1996, The environmental chemistry of aluminum, *Sposito, G., Ed*, 29-53.
- Nowak, J. S., Lassila, O., Vainio, O., Granfors, K. ve Toivanen, P., 1982, IgG fc receptor-bearing cells during early lymphoid cell development in the chicken, *Cellular Immunology*, 74 (1), 198-203.
- Nurmi, E. ve Rantala, M., 1973, New aspects of Salmonella infection in broiler production, *Nature*, 241 (5386), 210-211.
- Odén, S., 1914, Zur Kolloidchemie der Humusstoffe, *Kolloid-Zeitschrift*, 14 (3), 123-130.
- Okoli, I. ve Udedibie, A., 2000, Effect of oil treatment and storage temperature on egg quality, *Journal of Agriculture and Rural Development*, 1, 55-60.
- Onbaşılılar, E. ve Aksoy, F., 2005, Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions, *Livestock Production Science*, 95 (3), 255-263.
- Ossmer, R., Schmidt, W. ve Mende, U., 1999, Chromocult® Coliform Agar–Influence of Membrane Filter Quality on Performance, *Poster presentation Congresso de la Sociedad, Espanola de Microbiologia, Granada, Spain*.
- Ozturk, E. ve Çoşkun, İ., 2005, Humik asit içeren bitki ekstraktlarının yumurta tavuklarının yumurta verimi ve kalitesine etkileri, *III. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi*, 07-10.
- Özdemir, Ö. ve Erer, H., 2012, Tavukların önemli üst solunum yolu hastalıklarında a patolojik değişiklikler, *AVKAE Derg*, 2, 29-38.
- Öztürk, E., 2012, Hayvan beslemede humik asitlerden beklenen etki gözlenebiliyor mu? *Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Dergisi*, 1, 275-289.
- Panda, A. ve Reddy, M., 2007, Boosting the chick's immune system through early nutrition.
- Pandey, A. K., Pandey, S. D., Misra, V. ve Viswanathan, P., 1999, Formation of soluble complexes of metals with humic acid and its environmental significance, *Chemistry and Ecology*, 16 (4), 269-282.
- Park, K., Rhee, A., Um, J. ve Paik, I., 2009, Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens, *Journal of Applied Poultry Research*, 18 (3), 598-604.
- Parks, C., Ferket, P., Thomas, L. ve Grimes, J., 1986, Growth performance and immunity of turkeys fed high and low crude protein diets supplemented with Menefee humate, *Poult. Sci*, 75, 138-143.
- Parks, C., Ferket, P., Thomas, L. ve Grimes, J., 1996, Carcass yield and N balance of turkey toms fed high and low crude protein diets supplemented with menefee humate, *Poult. Sci*, 75 (Suppl 1), 116.

- Partanen, K. H. ve Mroz, Z., 1999, Organic acids for performance enhancement in pig diets, *Nutrition Research Reviews*, 12 (1), 117-145.
- Patten, J. ve Waldroup, P., 1988, Use of organic acids in broiler diets, *Poultry Science*, 67 (8), 1178-1182.
- Pavot, V., Rochereau, N., Genin, C., Verrier, B. ve Paul, S., 2012, New insights in mucosal vaccine development, *Vaccine*, 30 (2), 142-154.
- Pelicano, E. R. L., Souza, P. d., Souza, H. d., Figueiredo, D., Boiogo, M., Carvalho, S. ve Bordon, V., 2005, Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters, *Brazilian Journal of poultry science*, 7, 221-229.
- Peyman, F., Yahya, E., Habib, A. S., Naser, M. S. ve Alireza, A., 2014, Effects of organic acids supplement on performance and gut parameters in male Japanese quail (*Coturnix coturnix*), *Biological Forum*, 127-134.
- Potts Sr, P. ve Washburn, K., 1983, The relationship of age, method of measuring, and strain on variation in shell strength, *Poultry Science*, 62 (2), 239-246.
- Qu, A., Brulc, J. M., Wilson, M. K., Law, B. F., Theoret, J. R., Joens, L. A., Konkell, M. E., Angly, F., Dinsdale, E. A. ve Edwards, R. A., 2008, Comparative metagenomics reveals host specific metaviromes and horizontal gene transfer elements in the chicken cecum microbiome, *PLoS ONE*, 3 (8), e2945.
- Rajkumar, U., Sharma, R., Rajaravindra, K., Niranjana, M., Reddy, B., Bhattacharya, T. ve Chatterjee, R., 2009, Effect of genotype and age on egg quality traits in naked neck chicken under tropical climate from India, *International Journal of Poultry Science*, 8 (12), 1151-1155.
- Rath, N., Richards, M., Huff, W., Huff, G. ve Balog, J., 2005, Changes in the tibial growth plates of chickens with thiram-induced dyschondroplasia, *Journal of Comparative Pathology*, 133 (1), 41-52.
- Rath, N., Huff, W. ve Huff, G., 2006, Effects of humic acid on broiler chickens, *Poultry Science*, 85 (3), 410-414.
- Reichrath, J., Lehmann, B., Carlberg, C. ve Varani, J., 2007, Zouboulis cc, *Vitamins as hormones. Horm Metab Res*, 39, 71-84.
- Riede, U. N., Zeck-Kapp, G., Freudenberg, N., Keller, H. ve Seubert, B., 1991, Humate-induced activation of human granulocytes, *Virchows Archiv B*, 60, 27-34.
- Rizzi, C. ve Chiericato, G. M., 2005, Organic farming production. Effect of age on the productive yield and egg quality of hens of two commercial hybrid lines and two local breeds, *Italian Journal of Animal Science*, 4 (sup3), 160-162.
- Roland Sr, D. A., 1979, Factors influencing shell quality of aging hens, *Poultry Science*, 58 (4), 774-777.
- Salah, H., Mansour, E. ve Abd El Hamid, E. S., 2015, Study on the effect of humic acid on growth performance, immunological, some blood parameters and control intestinal closterdium in broiler chickens, *Zagazig Veterinary Journal*, 43 (1), 102-109.
- Salmanzadeh, M., 2013, Evaluation of dietary butyric acid supplementation on small intestinal morphology, performance and carcass traits of Japanese quails, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 164 (10), 481-485.
- Salmanzadeh, M., Bostanabad, J. G. ve Arva, S., 2014, The effects of in ovo injection of butyric acid into quails breeder eggs on hatchability, growth performance, development of the gastrointestinal tract, and carcass traits of Japanese quails, *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3 (3), 126-130.

- Salmanzadeh, M. ve LOTFI, A., 2015, Effect of in ovo feeding of butyric acid on hatchability, performance and small intestinal morphology of turkey poults, *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21 (1).
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron, M.-C., Cummings, J., Franck, A., Gibson, G., Isolauri, E., Moreau, M.-C., Roberfroid, M. ve Rowland, I., 1998, Functional food science and gastrointestinal physiology and function, *British journal of nutrition*, 80 (S1), S147-S171.
- Sarı, E. ve Kurtdele, N., 2006, Bursa Fabricius' un Histolojik Yapısı, *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12 (2).
- Schuhmacher, A. ve Gropp, J., 2000, Effect of humic acids on health state and performance of weaners, *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology (Germany)*.
- Seeger, D. R., 1984, The Formation of Acidic Trace Organic By-products from the Chlorination of Humic Acids, Drinking Water Research Laboratory, US Environmental Protection Agency, p.
- Shakouri, M., Iji, P., Mikkelsen, L. L. ve Cowieson, A., 2009, Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation, *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 93 (5), 647-658.
- Shermer, C., Maciorowski, K., Bailey, C., Byers, F. ve Ricke, S., 1998, Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77 (4), 479-486.
- Simakova, I. V., Vasiliev, A. A., Korsakov, K. V., Sivokhina, L. A., Salautin, V. V., Gulyaeva, L. Y. ve Dmitriev, N. O., 2021, Role of humic substances in formation of safety and quality of poultry meat, *Humic Substances*, 79.
- Skinner, J. T., IZAT, A. L. ve WALDROUP, P. W., 1991, Research note: Fumaric acid enhances performance of broiler chickens, *Poultry Science*, 70 (6), 1444-1447.
- Soltan, M., 2008, Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens, *International Journal of Poultry Science*, 7 (6), 613-621.
- Son, M.-H., Gong, J., Seo, S., Yoon, H. ve Chang, Y.-S., 2019, Photosensitized diastereoisomer-specific degradation of hexabromocyclododecane (HBCD) in the presence of humic acid in aquatic systems, *Journal of hazardous materials*, 369, 171-179.
- Stepchenko, L., Zhorina, L. ve Kravtsova, L., 1991, The effect of sodium humate on metabolism and resistance in highly productive poultry, *Nauchnye doklady vysshei shkoly. Biologicheskie nauki*, 90-95.
- Stevenson, F. J., 1994, Humus chemistry: genesis, composition, reactions, John Wiley & Sons, p.
- Sultan, A., Ullah, T., Khan, S. ve Khan, R. U., 2015, Effect of organic acid supplementation on the performance and ileal microflora of broiler during finishing period, *Pakistan Journal of Zoology*, 47 (3).
- Swatland, H., 1994, Structure and Development of Meat Animals and Poultry, Technomic Pub. Co, Inc. Lancaster, USA, 495.
- Şahin, S., 2003, Leonardit (Humat), Organik Kayısı Yetiştiriciliği, *Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Malatya*.
- Şeker, İ., Kul, S., Bayraktar, M. ve Yıldırım, Ö., 2005, Japon bildircinlerinde (coturnix coturnix japonica) yumurta verimi ve bazı yumurta kalite özelliklerine yaşın etkisi, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 31 (1), 129-138.
- Tabib, I. ve Onbaşlar, E. E., 2019, Tavuk Yumurtasında Kabuk Yapısı ve Kabuk Kalitesini Etkileyen Faktörler, *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 16 (2), 48-54.

- Taklimi, S., Ghahri, H. ve Isakan, M. A., 2012, Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens, *Agric. Sci*, 3, 663-668.
- Tancho, A., 1999, The effect of humic acid supplement on egg performance and egg quality of laying hen during 28-47 weeks of age. 30th Anniversary Kaset Ladkrabang, 24-26 June 1999.
- Tech, H., 2004, Humin feed-Tierfutterzusätze and Veterinär Medizin and Huminsäure Basierende Produkte, *Humintech® Humintech GmbH, Heerdtter Landstr*, 189.
- Thompson, J. L. ve Hinton, M., 1997, Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on Salmonellas in the crop, *British poultry science*, 38 (1), 59-65.
- Thompson, K. ve Applegate, T., 2006, Feed withdrawal alters small-intestinal morphology and mucus of broilers, *Poultry Science*, 85 (9), 1535-1540.
- Trofimova, E., Zykova, M., Danilets, M., Ligacheva, A., Sherstoboev, E. Y., Tsupko, A., Mikhalyov, D. ve Belousov, M., 2021, Immunomodulating properties of humic acids extracted from oligotrophic sphagnum magellanicum peat, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 170, 461-465.
- Tyler, C. ve Geake, F., 1964, A direct comparison of certain cracking and crushing methods used for measuring shell strength, *British poultry science*, 5 (1), 37-43.
- Üstündağ, A. Ö. ve Özdoğan, M., 2017, Kanatlı beslemede alterbiyotik kullanımı: probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler ve bakteriyosinler, *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Farmakoloji ve Toksikoloji Özel Dergisi*, 3 (3), 1-16.
- Van der Klis, J., Van Voorst, A. ve Van Cruyningen, C., 1993, Effect of a soluble polysaccharide (carboxy methyl cellulose) on the physico-chemical conditions in the gastrointestinal tract of broilers, *British poultry science*, 34 (5), 971-983.
- Van Leeuwen, P., Mouwen, J., Van Der Klis, J. ve Verstegen, M., 2004, Morphology of the small intestinal mucosal surface of broilers in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance, *British poultry science*, 45 (1), 41-48.
- van Rensburg, C. J., Van Rensburg, C., Van Ryssen, J., Casey, N. ve Rottinghaus, G., 2006, In vitro and in vivo assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens, *Poultry Science*, 85 (9), 1576-1583.
- Vanderwal, P., 1979, Salmonella control of feedstuffs by pelleting or acid treatment, *World's Poultry Science Journal*, 35 (2), 70-78.
- Waksman, S. A., 1936, Humus origin, chemical composition, and importance in nature, LWW.
- Wang, Q., Yoo, J., Chen, Y., Kim, H., Cho, J., Min, B., Park, B. ve Kim, I., 2006, Effects of supplemental humic substances on egg production and quality in laying hens, 33 (4), 317-321.
- Waseem Mirza, M., Rehman, Z. ve Mukhtar, N., 2016, Use of organic acids as potential feed additives in poultry production, *Journal of World's Poultry Research*, 6 (3), 105-116.
- Wershaw, R., Pinckney, D. ve Booker, S., 1977, Chemical structure of humic acids—part 1, a generalized structural model, *Journal of Research of the US Geological Survey*, 5 (5), 565-569.
- Wigley, P., Hulme, S. D., Powers, C., Beal, R. K., Berchieri Jr, A., Smith, A. ve Barrow, P., 2005, Infection of the reproductive tract and eggs with Salmonella enterica serovar pullorum in the chicken is associated with suppression of cellular immunity at sexual maturity, *Infection and immunity*, 73 (5), 2986-2990.

- Withanage, G., Baba, E., Sasai, K., Fukata, T., Kuwamura, M., Miyamoto, T. ve Arakawa, A., 1997, Localization and enumeration of T and B lymphocytes in the reproductive tract of laying hens, *Poultry Science*, 76 (5), 671-676.
- Xu, J., Barone, S., Petrovic, S., Wang, Z., Seidler, U., Riederer, B., Ramaswamy, K., Dudeja, P. K., Shull, G. E. ve Soleimani, M., 2003, Identification of an apical Cl⁻/HCO₃⁻-exchanger in gastric surface mucous and duodenal villus cells, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 285 (6), G1225-G1234.
- Yalcin, S., Eser, H., ONBAŞILAR, İ., Yalcin, S. ve Karakaş Oğuz, F., 2016, Effects of dietary sepiolite on performance, egg quality and some blood parameters in laying hens, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63 (1).
- Yalçın, S., Yalçın, S., Onbaşilar, İ., Eser, H. ve Şahin, A., 2014, Effects of dietary yeast cell wall on performance, egg quality and humoral immune response in laying hens, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.
- Yang, H. L., Chiu, H. C. ve Lu, F. J., 1996, Effects of humic acid on the viability and coagulant properties of human umbilical vein endothelial cells, *American journal of hematology*, 51 (3), 200-206.
- Yarkova, T., 2011, Chemical modification of humic acids by the introduction of indole-containing fragments, *Solid Fuel Chemistry*, 45 (4), 261-266.
- Yasar, S., Gokcimen, A., Altuntas, I., Yonden, Z. ve Petekkaya, E., 2002, Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations, *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 86 (7-8), 257-264.
- Yasar, S., 2003, Performance, gut size and ileal digesta viscosity of broiler chickens fed with a whole wheat added diet and the diets with different wheat particle sizes, *International Journal of Poultry Science*, 2 (1), 75-82.
- Yason, C. V., Summers, B. ve Schat, K., 1987, Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: pathology, *American journal of veterinary research*, 48 (6), 927-938.
- Yegani, M. ve Korver, D., 2008, Factors affecting intestinal health in poultry, *Poultry Science*, 87 (10), 2052-2063.
- Yeşilbağ, D. ve Çolpan, İ., 2003, Tüm tane buğday içeren yumurta tavuğu rasyonlarında organik asidin kullanımı, II, *Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, Bildiriler Kitabı*, s, 270, 274.
- Yörük, M., Gül, M., Hayirli, A. ve Laçın, E., 2004a, Laying performance and egg quality of hens supplemented with humate and sodium bicarbonate during the late laying period, *Journal of Applied Animal Research*, 26 (1), 17-21.
- Yörük, M., Gül, M., Hayirli, A. ve Macit, M., 2004b, The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens, *Poultry Science*, 83 (1), 84-88.
- YÖRÜK, M. A., LAÇIN, E., HAYIRLI, A. ve YILDIZ, A., 2008, Humat ve prebiyotiklerin farklı yerleşim sıklığında yetiştirilen Japon bildircimlerinde verim özellikleri, yumurta kalitesi ve kan parametrelerine etkisi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (1), 15-22.
- Zhang, A., Pirzado, S., Liu, G., Chen, Z., Chang, W., Cai, H., Bryden, W. ve Zheng, A., 2020, Dietary supplementation with sodium humate improves egg quality and immune function of laying hens, *Journal of Applied Animal Nutrition*, 8 (2), 93-99.

- Zhu, L., Liao, R., Wu, N., Zhu, G. ve Yang, C., 2019, Heat stress mediates changes in fecal microbiome and functional pathways of laying hens, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 461-472.
- Zita, L., Tůmová, E. ve Štolc, L., 2009, Effects of genotype, age and their interaction on egg quality in brown-egg laying hens, *Acta Veterinaria Brno*, 78 (1), 85-91.



EKLER

Ek 1: Numunelerin grupların yumurta verimine olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
0-28 gün					
Grup	4	95,9	23,9	0,30	0,872
Hata	16	1264,7	79		
Total	20	1360,1	32,9	0,30	0,872
28-56 gün					
Grup	4	347	87	0,64	0,642
Hata	17	2312	136		
Total	21	2659	223	0,64	0,642
56-84 gün					
Grup	4	586	146	0,64	0,639
Hata	20	4566	228		
Total	24	5151	374	0,64	0,639
0-84 gün					
Grup	4	422	105	0,51	0,371
Hata	63	13103	208		
Total	67	13525	313	0,51	0,371

Ek 2: Numunelerin grupların yem değerlendirme katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
0-28 gün					
Grup	4	0,851	0,213	1,93	0,139
Hata	24	2,650	0,110		
Total	28	3,501	0,323	1,93	0,139
28-56 gün					
Grup	4	0,0873	0,0218	0,39	0, 815
Hata	21	1,1812	0,0562		
Total	25	1,2685	0,0780	0,39	0, 815
56-84 gün					
Grup	4	0,1829	0,0457	0,68	0,611
Hata	21	1,4046	0,0669		
Total	25	1,5875	0,1126	0,68	0,611
0-84 gün					
Grup	4	0,2938	0,0734	0,91	0,463
Hata	76	6,1358	0,0807		
Total	80	6,4296	0,1541	0,91	0,463

Ek 3: Numunelerin grupların yem tüketimi katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
0-28 gün					
Grup	4	1867	467	1,95	0,134
Hata	24	5735	239		
Total	28	7602	706	1,95	0,134
28-56 gün					
Grup	4	342	86	0,54	0,705
Hata	21	3302	157		
Total	25	3644	243	0,54	0,705
56-84 gün					
Grup	4	966	242	1,42	0,261
Hata	21	3564	170		
Total	25	4530	412	1,42	0,261
0-84 gün					
Grup	4	645	161	0,78	0,539
Hata	76	15617	205		
Total	80	16262	366	0,78	0,539

Ek 4: Numunelerin grupların yumurta ağırlığı katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
0-28 gün					
Grup	4	26,5	6,6	0,35	0,838
Hata	23	430,0	18,7		
Total	27	456,5	25,3	0,35	0,838
28-56 gün					
Grup	4	64,8	16,2	1,14	0,365
Hata	21	298,6	14,2		
Total	25	363,5	30,4	1,14	0,365
56-84 gün					
Grup	4	22,8	5,7	0,43	0,782
Hata	21	276,0	13,1		
Total	25	298,9	18,8	0,43	0,782
0-84 gün					
Grup	4	64,2	16,0	1,14	0,346
Hata	75	1058,9	14,1		
Total	79	1123,1	30,1	1,14	0,346

Ek 5: Numunelerin grupların vilus genişliği ve uzunluğunun katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Vilus genişliği					
Grup	5	0,617	0,0154	0,63	0,663
Hata	4	0,1228	0,0246		
Total	9	0,1845	0,0400	0,63	0,663
Vilus uzunluğu					
Grup	4	0,986	0,246	0,48	0,749
Hata	5	2,544	0,509		
Total	9	3,530	0,755	0,48	0,749

Ek 6: Numunelerin grupların immunoglobulin katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
IGG					
Grup	4	0,3787	0,09470	1,17	0,425
Hata	5	0,4061	0,08120		
Total	9	0,7848	0,17590	1,17	0,425
IGM					
Grup	4	0,21360	0,05340	32,36	0,001
Hata	5	0,00825	0,00165		
Total	9	0,22185	0,05505	32,36	0,001
IGA					
Grup	4	0,00394	0,00098	0,10	0,977
Hata	5	0,04870	0,00974		
Total	9	0,05264	0,01072	0,10	0,977

Ek 7: Numunelerin grupların yumurta kabuk kalitesi katsayısına olan etkilerine ait varyans analizi sonuçları

Varyans kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Kabul kırılma direnci					
Grup	4	3,356	0,839	2,01	0,110
Hata	45	18,812	0,418		
Total	49	22,168	1,257	2,01	0,110
Yumurta kabuk ağırlığı					
Grup	4	0,705	0,176	0,79	0,539
Hata	45	10,069	0,224		
Total	49	10,775	0,400	0,79	0,539
Kabuk özgül ağırlık					
Grup	4	0,0541	0,0135	0,96	0,440
Hata	45	0,6357	0,0141		
Total	49	0,6898	0,0276	0,96	0,440
Kabuk kalınlığı					
Grup	4	815	204	1,23	0,313
Hata	45	7477	166		
Total	49	8292	370	1,23	0,313
Yumurta kabuk oranı					
Grup	4	1,287	0,322	1,03	0,404
Hata	44	13,783	0,313		
Total	48	15,070	0,635	1,03	0,404