



**DAMIZLIK ETLİK PİLİÇ YUMURTALARINA İN OVO GLUKOZ VE
VİTAMİN C UYGULAMASININ KULUÇKA PERFORMANSINA ETKİLERİ**

MERVE TARHAN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Günnur PEŞMEN

HAZİRAN 2023

AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ ONAYI

| | | |
|---------------------------------|--|---|
| Öğrencinin | Adı- Soyadı | Merve TARHAN |
| | Numarası | 203308003 |
| | Anabilim Dalı | Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları |
| | Programı | Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları |
| | Program Düzeyi | <input type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora |
| Tezin Başlığı | Damızlık Etlik Piliç Yumurtalarına İn Ovo Glukoz ve Vitamin C Uygulamasının Kuluçka Performansına Etkileri | |
| Tez Savunma Sınav Tarihi | 06.06.2023 | |
| Tez Savunma Sınav Saati | 14.00 | |

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Esma KOZAN
Enstitü Müdürü



T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DAMIZLIK ETLİK PİLİÇ YUMURTALARINA İN OVO GLUKOZ
VE VİTAMİN C UYGULAMASININ KULUÇKA
PERFORMANSINA ETKİLERİ

Hazırlayan
MERVE TARHAN

Danışman
Dr. Öğretim Üyesi Günnur PEŞMEN

Tez No:
AFYONKARAHİSAR 2023

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 2023-009 “22.SAĞ.BİL.05”

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

MERVE TARHAN

ÖZET

DAMIZLIK ETLİK PİLİÇ YUMURTALARINA İN OVO GLUKOZ VE VİTAMİN C UYGULAMASININ KULUÇKA PERFORMANSINA ETKİLERİ

Bu çalışma kuluçkalık etlik piliç yumurtalarına farklı seviyelerde glukoz ve vitamin C enjeksiyon uygulamasının kuluçka çıkış gücü, civciv ağırlığı ve civciv uzunluğu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışma Uşak İli Eşme ilçesinde bulunan Gedik Piliç A.Ş. kuluçkahanesinde, 600 adet döllü etlik piliç yumurtası (Cobb 500) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 6 deneme grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubu; herhangi bir çözelti enjekte edilmemiştir. Negatif kontrol grubu; 0.1ml deiyonize su enjekte edilmiştir. Glukoz (10 mg) grubu; 10 mg glukoz içeren 0.1 ml deiyonize su çözeltisi enjekte edilmiştir. Glukoz (15 mg) grubu; 15 mg glukoz içeren 0.1ml deiyonize su enjekte edilmiştir. Vitamin C (3 mg) grubu; 3 mg vitamin C içeren 0.1 deiyonize su enjekte edilmiştir. Vitamin C (6 mg) grubu; 6 mg vitamin C içeren 0.1 deiyonize su enjekte edilmiştir.

Yumurtalar deneme gruplarına ayrıldıktan sonra kuluçka işlemine tabi tutulmuştur. Kuluçka şartları (sıcaklık, nem, çevirme, havalandırma) kuluçkahane kuluçka makinesinde otomatik olarak ayarlanmıştır. Kuluçkanın 18. gününde döllülük kontrolü yapılarak dölsüz ve ölü embriyolu yumurtalar tablalardan alınmıştır. Her grupta 100 adet döllü yumurta olacak şekilde 6 deneme grubu oluşturulmuştur. Deneme gruplarına göre belirlenen dozlarda glukoz ve vitamin C içeren 0.1 ml'lik deiyonize su kuluçkanın 18. gününde yumurtaların hava kesesine uygulanmıştır. Kuluçka işlemi tamamlandıktan sonra her gruptaki canlı civciv sayısı, civciv ağırlığı ve civciv uzunluğu ölçümleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda, deneme grupları arasında çıkış gücü ve civciv ağırlığı arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunurken, civciv uzunluğu bakımından deneme grupları arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Özetle; glukoz (15 mg) deneme grubu hariç civciv ağırlığı ve civciv uzunluğu parametrelerini olumsuz etkilemeksizin 10 mg'a kadar glukoz enjeksiyonunun ve 6 mg'a kadar vitamin C enjeksiyonunun etlik piliç civcivlerinin daha yüksek çıkış özelliklerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Civcivin ilk günlerde besin maddelerini en etkin Şekilde kullanarak hayatına sağlıklı bir baŐlangıĉ yapması ve erken dönem performansı aĉısından oldukĉa önemlidir. İn ovo besleme, yeterli miktarda besini yumurtaya geĉirmekte zorluk yaşayan etlik piliĉ yetiŐtiricileri iĉin en iyi sonuĉları verebilecek bir tekniktir. Bu noktada in ovo besleme yumurtalar iĉin düzeltici besin bileşimi sağlayabilir ve civcivlerin besin eksikliklerini giderebilir.

Anahtar kelimeler: Civciv uzunluğu, glukoz, in ovo enjeksiyon, kuluĉka performansı, vitamin C



ABSTRACT

THE EFFECTS OF IN OVO GLUCOSE AND VITAMIN C APPLICATION ON BROILER EGGS ON HATCHING PERFORMANCE

This study was carried out to determine the effects of injection of different levels of glucose and vitamin C on broiler eggs on hatchability, chick weight and chick length. The study was carried out in a commercial hatchery located in Eşme district of Uşak, using 600 fertile broiler eggs (Cobb 500). Six experimental groups were formed in the study. Control group; no solution was injected. Negative control group; 0.1ml of deionized water was injected. Glucose (10 mg) group; 0.1 ml of deionized water solution containing 10 mg of glucose was injected. Glucose (15 mg) group; 0.1ml of deionized water containing 15mg glucose was injected. Vitamin C (3 mg) group; 0.1 deionized water containing 3 mg of vitamin C was injected. Vitamin C (6 mg) group; 0.1 deionized water containing 6 mg of vitamin C was injected.

After the eggs were divided into experimental groups, they were incubated. Incubation conditions (temperature, humidity, rotation, ventilation) were set automatically in the hatchery incubator. Fertility control was performed on the 18th day of incubation, and eggs with infertile and dead embryos were taken from the trays. Six experimental groups were formed with 100 fertile eggs in each group. 0.1 ml of deionized water containing glucose and vitamin C at doses determined according to the experimental groups was applied to the air sac of the eggs on the 18th day of hatching. After the incubation process was completed, the number of live chicks in each group, chick weight and chick length were measured. As a result of the study, there was a statistically significant difference between the hatching power and chick weight between the experimental groups, but no statistically significant difference was found between the experimental groups in terms of chick length. In summary; It was determined that up to 10 mg glucose injection and up to 6 mg vitamin C injection had higher hatching characteristics in broiler chickens without adversely affecting the chick weight and chick length parameters except glucose (15 mg) experimental group.

It is very important for the chick to use nutrients optimally in the first days in terms of a healthy start in life and early performance. In ovo feeding is a technique that may provide the best results for broiler breeders who have difficulty passing sufficient nutrients to the eggs. At this point, in ovo feeding can provide corrective nutritional composition for the eggs and compensate for the nutrient deficiencies of the chicks.

Key words: Chick length, glucose, hatching performance, in ovo injection, vitamin C



ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırarak sabır ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek amacıyla elinden gelenden fazlasını sunan, gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Günnur PEŞMEN'e, değerli jüri üyelerim Prof. Dr. İ.Sadi ÇETİNGÜL, ve Doç. Dr. İsa COŞKUN'a teşekkürü bir borç biliyorum. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni bölümünde yer alan değerli hocam Prof. Dr. İsmail KESKİN'e istatistiki değerleri hesaplamalarımda sağladığı katkılarından dolayı teşekkür ediyorum. Çalışmalarımı sürdürebilmem için çok önemli bir yeri olan maddi destekleri için Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'ne, çalışmalarımı gerçekleştirmem için yardımcı olan ve işletmelerini tüm çalışma boyunca bize işyerlerinin kapısını açan Gedik Piliç'e, çalışmam süresince işletme hakkında bilgi vererek ve çalışmaya yardımcı olarak bize desteklerini esirgemeyen Dilruba KISAĞLU, Harun KÖK ve Gedik Piliç Eşme Kuluçka Bölümünün tüm çalışanlarına sonsuz teşekkür ediyorum.

Merve TARHAN

Afyonkarahisar

2023

İÇİNDEKİLER

SAYFA

| | |
|---------------------------------------|-------------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI | |
| BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI | |
| ÖZET | i |
| SUMMARY | iii |
| ÖNSÖZ SAYFASI | v |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| KISALTMALAR | viii |
| TABLolar DİZİNİ | ix |
| RESİMLER DİZİNİ | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. İn Ovo Enjeksiyonunun Tarihçesi | 6 |
| 1.2. İn Ovo Enjeksiyon Yeri | 8 |
| 1.3. İn Ovo Enjeksiyon Zamanı | 10 |
| 1.4. Glukoz | 11 |
| 1.5. Vitamin C | 14 |
| 1.6. Literatür Bilgi | 15 |
| 2. MATERYAL VE METOT | 20 |
| 2.1. Materyal Temini | 20 |
| 2.1.1. Yumurta Materyali | 20 |
| 2.1.2. Kimyasal materyal | 20 |
| 2.1.2.1 Glukoz | 20 |
| 2.1.2.2. Vitamin C | 20 |
| 2.2. Metot | 20 |
| 2.2.1. Kuluçka Aşaması | 20 |
| 2.2.2. İn Ovo Uygulaması | 23 |
| 2.2.3. İncelenen Parametreler | 24 |
| 2.2.3.1. Çıkış Gücü | 24 |
| 2.2.3.2. Cıvciv Ağırlığı | 25 |
| 2.2.3.3. Cıvciv uzunluğu | 25 |
| 2.3. İstatiksel Analizler | 26 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 3. | BULGULAR | 27 |
| 3.1. | Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Cıvciv Ağırlığı Üzerine Etkisi | 27 |
| 3.2. | Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Cıvciv Uzunluğu Üzerine Etkisi | 28 |
| 3.3. | Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Çıkış Gücü Üzerine Etkisi | 29 |
| 4. | TARTIŞMA | 30 |
| 4.1. | Cıvciv Ağırlığı | 30 |
| 4.2. | Cıvciv uzunluğu | 32 |
| 4.3. | Çıkış gücü | 33 |
| 5. | SONUÇ VE ÖNERİLER | 36 |
| 6. | KAYNAKLAR | 37 |
| 7. | EKLER | 47 |
| | ÖZGEÇMİŞ | 48 |

KISALTMALAR

mg: Miligram

ml: Mililitre

cm: Santimetre

g: Gram

%: Yüzde

n: Örneklem büyüklüğü

p: Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri

TABLolar DİZİNİ

| | SAYFA |
|---|--------------|
| Tablo 1.1. Glukoz ve vitamin C in ovo enjeksiyonlarına yönelik çeşitli çalışmalar | 19 |
| Tablo 2.2. Deneme grupları | 22 |
| Tablo 3.3. Cıvciv ağırlığı bakımından deneme gruplarının karşılaştırılması | 27 |
| Tablo 4.3. Cıvciv uzunluğu bakımından deneme gruplarının karşılaştırılması | 28 |
| Tablo 5.3. Çıkış gücü bakımından deneme gruplarının karşılaştırılması | 28 |

RESİMLER DİZİNİ

| | SAYFA |
|--|--------------|
| Resim 1.1. İnoject sistemi | 8 |
| Resim 2.1. Embriyonik dönemde yumurtadaki bölümler | 9 |
| Resim 3.2. Etlik piliç (Cobb 500) kuluçkalık yumurtaları | 21 |
| Resim 4.2. Döllülük kontrolü | 22 |
| Resim 5.2. Yumurtalara mikro motor ile delik açılması | 23 |
| Resim 6.2. Yumurtalara in ovo uygulaması | 24 |
| Resim 7.2. Yumurtadan çıkış sonrası broiler civcivler | 25 |
| Resim 8.2. Civciv uzunluğunun ölçümü | 26 |

1.GİRİŞ

Son 50 yılda genetik seleksiyon kümes hayvanlarının fonksiyonel özelliklerini büyük ölçüde iyileştirmiş ve verimliliğin artırılmasına katkı sağlamıştır (Druy vd., 2010). Ancak bununla birlikte kanatlılarda iskelet anomalileri, immünosupresyon ve bulaşıcı hastalıklara karşı hassasiyet gibi bazı istenmeyen durumlar ortaya çıkmıştır (Emmerson, 1997; Havenstein vd., 2003). Günümüzde, tavuklar 52 haftalık yumurtlama periyodunda 320'den fazla yumurta, etlik civcivler ise kesim ağırlığına 50-60 kat daha fazla vücut ağırlığı ile ulaşmaktadır (Druy vd., 2010). 1957 yılından 2005 yılına kadar piliçlerin canlı vücut ağırlıkları %400'ün üzerinde artmıştır (Zuidhof vd., 2014).

Civcivler yumurtadan çıktıktan sonra aşılama, cinsiyet ayrımı ve yetiştirme kümeslerine nakillerine kadar ki geçen 2-3 günlük süreçte yem ve su tüketemeyebilir. Bu da verimli yaşamlarının % 4.5 ila 10'unu yem ve su olmadan geçirdikleri anlamına gelmektedir (Kanagaraju, 2014). Civcivler bu süreçte karın içine çekilmiş yumurta sarı kesesindeki besin maddelerini kullanarak bu dönemi atlattırılar. Bu durum civcivlerin ileriki dönemlerindeki gerek verim performansı üzerine gerekse yetiştiricinin karı üzerine olumsuz etki yapar. Ayrıca besin alımındaki bu gecikme metabolizmayı desteklemek için vücut rezervlerinin mobilizasyonuna sebep olarak canlı ağırlığın azalmasına, genel büyümeyi, bağışıklık yeterliliği ve sağlık performansının bozulmasına sebep olur (Abdulqader vd., 2017; Kanagaraju ve Rathnapraba, 2019). Söz konusu bu olumsuz durumların oluşmaması için kuluçka sonrası civcivlerin mümkün olan en kısa zamanda yem ve suya ulaşmaları gerekir (Abdulqader vd., 2017).

Embriyonal dönemde çeşitli besin maddelerinin takviyesi, özellikle damızlıkların beslenmesinde yapılabilecek hataların ya da besleme yetersizliklerinin kuluçka randımanı ve civciv kalitesinde oluşabilecek olumsuz etkilerin hafifletilmesinde fayda sağlamaktadır (Abdulqader vd., 2017). Yumurtalar yapıları gereği dış çevreden ilave besin alamadığından embriyonun gelişmesi için ihtiyaç duyulan enerji ve protein gibi besin maddelerinin yumurtaya geçmesi ve birikmesi gerekmektedir (Richard, 1997).

Civcivlerde prenatal dönem embriyo gelişimi için oldukça kritik öneme sahip olup bu dönemde civcivler sahip olduğu bazal metabolizma ve çıkış için çok yüksek enerjiye ihtiyaç duyarlar. Embriyonal dönemin sonlarına doğru glikoz rezervleri ve yumurta sarısında bulunan bazı besin maddeleri düzeyleri ciddi oranda azalmaktadır (Cöner, 2020) Yumurtadaki embriyo yapısal olarak yumurta dışından herhangi bir besin maddesi alamamaktadır. Yumurtadan çıktıktan hemen sonra, glikojen ve aminoasit rezervleri glikoneojenez nedeniyle hızla azalır, bu da büyümeyi ve yaşamı olumsuz etkiler (Kanagaraju, 2014).

Kanatlılarda sindirim sistemi hem canlı ağırlığa hem de büyüme hızına bağlı olarak gelişir (Nitsan vd., 1991). Yeme erişim geciktiğinde ince bağırsak villusunun yüzey alanı bozulmakta, yem tüketiminin başlamasıyla duodenum ile ileum 5 gün ve jejunum ise 11 gün sonra normal değerine ulaşmaktadır (Uni vd., 1999). Yemleme yöntemleri sindirim sistemi organlarının büyüklüğünü etkilemekte olup prenatal dönemden yumurtadan çıkış sonrası yem alımı dönemine geçişte erken besleme ve in ovo besleme etkili olmaktadır (Çelik ve Açıköz, 2006).

Ticari tavukların ve hindilerin gelişimi ve hayatta kalması için kuluçka öncesi ve sonrası birkaç gün kritik önem sahiptir. Kanatlılar olgunlaşmamış bir gastrointestinal sistemle yumurtadan çıkarlar ve karbonhidrat ve amino asitleri çok iyi kullanamazlar. Geç dönem embriyolar kritik vücut kaynaklarının (glikojen, kas, yumurta sarısı) yoksunluğunda, olumsuz bir beslenme durumunun stresine maruz kalabilir. Söz konusu bu stres faktörlerine ilave olarak, civcivler yumurtadan çıktıktan sonra yem ve suya erişim süresindeki gecikmelerle iki yönlü baskıya maruz kalmaktadır. Bu da patojenlere karşı duyarlılık, canlı ağırlık kaybı ve kritik dokuların gelişiminin sınırlanmasıyla sonuçlanır. Ayrıca civcivlerin yaklaşık %2 ila % 5'i sınırlı vücut rezervleri nedeniyle yumurta çıkımından sonraki dönemde hayatta kalamaz, hayatta kalanların çoğu bodur büyüme, verimsiz yem kullanımı, düşük hastalık direnci veya düşük et verimi sergilerler. İn ovo besleme, embriyodan bağımsız gıda tedarikine geçiş sırasında desteklemeye yardımcı olabilir (Uni ve Ferket, 2019).

Etlik piliçlerin kısa ömürlerinin (45 günlük yaşta kesime gitmelerinden dolayı) telafi edici bir büyüme için zaman yoktur (Kornasio vd., 2011). Bu nedenle etlik civcivlerin ilk büyüme dönemlerinde büyüme performansları üzerindeki olumlu etkileri teşvik etmek gerekir (Ismail vd., 2019).

Her yumurtanın besin madde içeriğindeki farklılık civcivlerin ileriki dönemlerinde sürünün yaşam ve verim parametrelerini etkilemektedir. Yaşam ve verim parametrelerini iyileştirmek ve daha uniform sürü yapısına kavuşturmak için kanatlı yumurtalarına kuluçka döneminde in ovo enjeksiyon tekniği ile bir takım besin takviyeleri uygulanmaktadır (Ricks vd., 2003; Kadam vd., 2013).

İn ovo enjeksiyon teknolojisi kanatlı sektöründe son yıllarda uygulama alanı bulan yeni bir teknolojidir (Moosanezhad vd., 2011; Kutlu ve Şahin 2017). Ayrıca yumurtaya besin enjeksiyonu, yumurtadan yeni çıkmış civcivlerin ağırlığını arttırmak için alternatif bir yöntemdir (Ohta vd., 1999). Yumurtadan çıktıktan sonra yiyeceğe erişimin gecikmesi nedeniyle besinlerin kanatlılara in-ovo teknikle verilmesi popüler hale gelmektedir (Roto vd., 2016). Kuluçkadan çıkış döneminde embriyonun en önemli besin kaynakları ak ve yumurta sarısıdır. Yumurta sarısında bulunan besinler yumurta sarısı kesesinden embriyonik dolaşıma geçer ve çıkışın son günlerine doğru yumurta kesesinde kalan besinler göbekten alınarak civciv yiyecek ve suya ulaşana kadar gereksinimlerini karşılar (Bauer vd., 2013).

In ovo enjeksiyon teknolojisi, etlik piliç embriyosu tarafından belirli besinlerin, kofaktörlerin veya metabolik modülatörlerin maksimum Emilimi için kuluçkanın herhangi bir aşamasında kümes hayvanlarının döllü yumurtalarına doğrudan uygulanması esasına dayanır. Hızlı büyüyen etlik piliç embriyoları, bağırsak gelişimi ve kaslardaki hücre aktivitesini başlatmak için daha fazla glikoz ve aminoasit ihtiyacı duyar (Uni ve Yahov, 2009; Saeed vd., 2019). Embriyonik gelişim sırasında civcivin ihtiyaçlarını önceden tahmin etmek ve yumurtadan çıktıktan sonra yeni rasyona adapte etmek ve enerji gerektiren bir aktivite olan kuluçka için ekstra enerji sağlamak için in ovo enjeksiyon teknolojisini kullanmak mümkündür (Cardeal vd., 2015).

İn ovo enjeksiyon uygulaması sindirim sistemi gelişim hızını arttırarak, civcivlerde daha erken yaşta sindirim sistemi gelişimini tamamlamasını sağlar. Damızlık işletmelerde kuluçka çıkış gücünde sağlanacak bir birimlik artış işletme için önemli bir ekonomik değer ifade eder (Sözcü ve Curabay, 2014).

İn ovo enjeksiyon teknolojisinde civciv inkübasyon süreci tamamlanmadan yem tüketmeye başladığından bu durum karın boşluğuna çekilen yumurta sarı kesesi ağırlığını arttırmaktadır. Dolayısıyla kuluçka sonrasında daha az ölüm oranı, enzim aktivitelerindeki artış, artan iştaha bağlı olarak kuluçka sonrası yem tüketiminin uyarılması, bağışıklığın sistemi güçlendirilmesi, bağırsak gelişiminin hızlandırılması, kas gelişimi ve göğüs eti randımanında artış gibi olumlu sonuçlar elde edilmektedir (Uni ve Ferket, 2004). Ayrıca, in ovo enjeksiyon kuluçka gelişimi için mutlak gerekli olan karbonhidratlar, glukoz için bir kaynak oluşturmak suretiyle, villus büyüklüğünün ve bağırsak kapasitesinin arttırılması daha yüksek canlı ağırlık ile sonuçlanabilmektedir (Tako vd., 2004). Kuluçka dönemi süresince incebağırsağın ağırlığındaki oransal artış, vücut ağırlığındaki oransal artışa göre daha fazladır ve kuluçkanın son 3 gününde, ince bağırsakların vücut ağırlığına oranı %1'den % 3.5'e yükselmekte olup (Uni vd., 2003), bu yükseliş yumurtadan çıkış sonrasında da hızlı bir şekilde devam etmektedir. Yumurtadan çıkış sonrası enzimatik ve absortif aktiviteler sonucunda bağırsak gelişimi de artış göstermektedir (Uni vd., 1999).

Çeşitli çalışmalar göstermiştir ki in ovo enjeksiyon uygulaması kuluçka sonrası uygulamalardan daha etkili olmaktadır (Saeed vd., 2019). İnkübasyon sonrası civcivlerin ince bağırsaklarındaki morfolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler ilk 2 haftada olup en önemli değişimler ilk 24 saatte gerçekleşir (Geyra vd., 2001). Kanatlılarda bağırsak sağlığı ve beslenme arasında sıkı bir ilişki vardır (Efil, 2014).

İnkübasyonun 17. ve 18. günlerinde eksojen besin maddelerinin in ovo olarak amniyotik sıvıya verilmesi, villusların boyunu arttırmakta, bağırsak gelişimini hızlandırmakta, ayrıca karbonhidrat sindirimini de olumlu yönde etkilemektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, in ovo enjeksiyon yapılan döllu etlik piliç embriyolarının çıkımda ince bağırsaklarındaki gelişiminin, 2 günlük yaştaki civcivlerin bağırsaklarıyla eşdeğer ve

aynı zamanda civcivlerin daha yüksek canlı ağırlığa sahip olduklarını göstermiştir (Tako vd., 2004).

İn ovo beslemenin amaçları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Kümes hayvanlarının üretkenliğini, hastalıklara karşı direncini ve sağlığını korumak (Arain vd., 2022).

2. Besinler ile olgunlaşmamış bağırsak arasındaki etkileşimin, emici epitelyumun gelişimi ve esas olarak karbonhidratları sindirmek için enzimatik aktiviteyi indüklediği sindirim sisteminin erken gelişimini teşvik etmek (Cardeal vd., 2015).

3. Kuluçka randımanı ve civciv kalitesini iyileştirmek (Arain vd., 2022; Tako vd., 2004).

4. Enfeksiyon ve oksidatif stres ile ilgili sorunları azaltmak ve sentetik antibiyotiklerin ve büyüme hızlandırıcıların kullanımını en aza indirmek (Arain vd., 2022).

5. Yetiştiricilerin kanatlı beslemedeki hata ve eksikliklerinin kuluçka randımanı ve civciv kalitesi üzerine olası olumsuz etkilerini önlemek (Abdulqader vd., 2017).

6. Civcivlerin yumurtadan çıktıktan sonra 2-3 günlük dönemde yem ve suya erişimdeki gecikmelerin olumsuz etkilerini önlemek (Kornasio vd., 2011; Abdulgader vd., 2017).

7. Kuluçka sonrası büyüme döneminde uzun süreli etki ile enjekte edilen materyalin embriyonik dokuya etkin ulaşmasını sağlamak (Saeed vd., 2019).

8. Civcivlerde sindirim kapasitesini ve bağırsak gelişimini arttırmak (Uni ve Ferket, 2003), iskelet sistemini iyileştirmek (Hargis vd., 1989), kas büyümesini arttırmak (Hajihosaini ve Mottaghitalab, 2004).

9. Erken dönemde cinsiyetin manipüle edilmesi (Ataei ve Kırkpınar, 2021).

10. İn ovo teknolojisi civcivlerin aşılmasında kullanılmakta ve aşılama avantajlar sağlamaktadır (Uni ve Ferket, 2003). Bu avantajları Souza (2008) aşağıdaki gibi sıralamıştır:

a- Daha sağlıklı hayvanlar: Aşılara daha erken maruz kalmak, civcivlerin daha erken bağışıklık geliştirmesini sağlar.

b- Hassas ve üniform enjeksiyon: Üniform bir süreç, yumurtalara %100 ve doğru dozaj uygulaması.

c- Azalan içerik maliyetleri: İn ovo enjeksiyon sistemleri kanatlıların kuluçkadan sonra aşılama kıyasla işgücü ihtiyacında azalma sağlar.

d- Azaltılmış stres: İn ovo enjeksiyonu, civcivlerin yumurtadan çıktıktan sonra kuluçkahanelerde manuel enjeksiyondan kaynaklanan stresini ve idaresini azaltır.

e- İğne sanitasyonu: Her enjeksiyondan sonra her bir iğnenin ayrı ayrı sanitasyonu ile kontaminasyon ve hastalık yayılma riskleri, kuluçka sonrası manuel enjeksiyona kıyasla en aza indirilir (Souza, 2008).

İN ovo enjeksiyon teknolojisinin birçok avantajlarının yanı sıra dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar arasında;

- 1.Enjeksiyon bölgesi ve zamanı hakkında net bir bilginin olmaması,
- 2.Otomatik sistem (inovoject) kullanılmadığı takdirde zaman alıcı, dikkat ve özen gerektirmesi,
- 3.İşlem gerçekleştirilirken dezenfeksiyon kurallarına uyulmadığı takdirde enfeksiyon riskinin bulunması.

İN ovo enjeksiyon teknolojisi ile neonatal dönemde alınan sonuçların birçoğu olumlu olsa da, bu olumlu sonuçların daha sonraki dönemlerde görülüp görülmediği tam olarak belirlenememiştir. İn ovo beslemenin uzun vadeli faydaları konusunda araştırmacılar arasında hala birçok anlaşmazlık vardır. İn ovo teknolojisinin sağladığı avantajlar gelişmeye devam etmekte ve kanatlı sektörüne ek faydalar sunmaktadır.

Bu çalışma, Cobb 500 ırkı etlik piliç döllü yumurtalarında embriyonun özellikle son 3 günlük döneminde metabolik ısıdaki artışın neden olduğu stres faktörlerinin Vitamin C uygulaması ile azaltılması ve glukoz uygulaması ile embriyoya çıkış öncesi ek enerji sağlanması ve çıkış gücü, civciv ağırlığı ve civciv uzunluğu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

1.1. İn Ovo Enjeksiyonun Tarihçesi

İN ovo tekniği ilk olarak 1970'li yılların sonunda kullanılmaya başlamıştır (Abdulgader vd., 2017). Kanatlı sektöründe in ovo tekniğinin patenti ilk olarak 1985 yılında Embrex tarafından alınmıştır ve 1991 yılında ilk kez ticari olarak kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda ise yine Embrex tarafından yumurtaya otomatik olarak enjeksiyon yapabilen

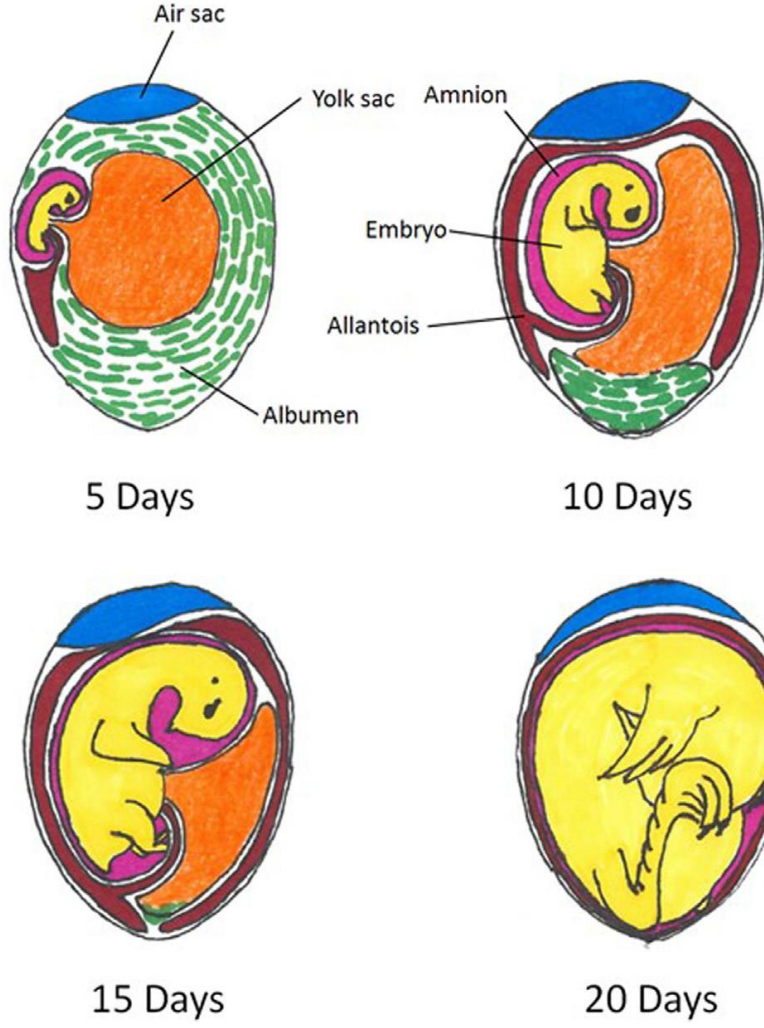
INOVOJECT® sistemi geliştirilmiştir (Sharma ve Burmester, 1984; Johnson vd., 1997). İn ovo enjeksiyon yöntemi Amerika ve İsrail’de patentli olarak sürdürülmektedir. İn ovo uygulamaları yaygın olarak aşı programlarında uygulanmaktadır. Pfizer Animal Health’in lisanslı in ovo aşıları arasında MDV (Marek aşısı 3 serotip), IBDV (Gumboro), Fowl Pox (poxvirus), Eimeria spp. (coccidio), ND (Newcastle) yer almaktadır (Islam vd. 2019). Türkiye’de ise HVT (Marek) ve Gumboro (Bursaplex) aşıları ruhsatlı olarak kullanılmaktadır. (Üçtepe, 2016). İn ovo enjeksiyon makineleri saatte 25000 ile 62000 arasında yumurtanın herhangi bir bölgesine eş zamanlı olarak çözelti uygulayabilen makinelerdir (Williams ve Zedek, 2010; Peebles, 2018). Ağustos 1995’in ortasına kadar, Kuzey Amerika’daki piliç embriyolarının %55’i INOVOJECT sistemi kullanılarak Marek hastalığı için aşılanmıştır (Johnston vd., 1997). Gelişmiş ülkelerdeki etlik piliçlerin yaklaşık %95’i in ovo teknik ile aşılanmaktadır (Maiorano vd., 2012). İn ovo aşılamadaki başarı nedeniyle, besin takviyesi, hormonlar ve bağışıklık uyarıcılar gibi çeşitli biyolojik maddelerin enjeksiyonu son yıllarda popüler hale gelmiştir ve bu kapsamda deneyler yapılmıştır. Bununla birlikte, in ovo beslemede kullanılan çeşitli besinlerin tek başına veya diğer besin maddeleri ile birlikte kullanımı, kullanım dozları, enjeksiyon hacmi, enjeksiyon yeri ile ilgili belirsizlikler devam hala devam etmektedir (Roto vd., 2016). Karbonhidaratların in ovo olarak verilmesi ile ilgili olarak Zangeronimo vd., (2023), bugüne kadar, en iyi karbonhidratın hangisi olduğunu ve kümes hayvancılığında üretim oranlarını iyileştirmek için bunları kullanmanın en iyi yolunun ne olduğunu kanıtlayan yeterli çalışmanın olmadığını bildirmişlerdir. Abdulqader vd. (2017), aşılama için kullanılan in ovo enjeksiyon sistemlerine besin ve katkı maddelerinin eklenmesi ile in ovo beslemenin avantajlarının artırılabilirliğini bildirmişlerdir.



Resim 1.1: Inovoject sistemi

1.2. İn Ovo Enjeksiyon Yeri

İn ovo teknolojisinde uygulanan çözeltilerin yararlanılabilirliği yumurtada en doğru bölüme enjekte edilmesi suretiyle en üst düzeye çıkarılabilir. Kuluçkanın son aşamasında bir yumurtada Resim 2'deki gibi bölümler ayırt edilir.



Resim 2.1: Embriyonik dönemde yumurtadaki bölümler (Roto vd., 2016).

- a- Hava kesesi; yumurtanın küt ucunda yer alır ve gaz ile dolan bölümdür.
- b- Allantoik kese; yumurta içindeki atıkların depolandığı bölümdür.
- c- Amniyotik kese; embriyoyu saran bir zardır. Amniyon sıvısı bulundurur ve bu sıvı embriyoyu sarsıntı ve ısı değişimlerine karşı korur.
- d- Embriyo; amniyotik kesesi içinde yer alır.
- e- Sarı kesesi; embriyonun gelişmesi için gerekli besinleri ihtiva eder (Wakenell vd., 2002).

Resim 2’de her bir bölge embriyoya giden belli bir yolu temsil etmektedir. Belirli tip aşı ve antijenler, besin maddeleri, hormonlar ve solüsyonlar embriyo tarafından absorpsiyonu dikkate alınarak uygun bölgelere enjekte edilmektedir. İn ovo bölgeleri ve

içerdikleri sıvılar farklı işlev ve içerikte olduğundan embriyonun yanıtı da değişmektedir (Williams, 2008).

In ovo tekniğinde enjeksiyonun yapılacağı bölge konusunda farklı uygulamalar mevcuttur (Tablo 1) (Kop vd., 2016). Ebrahimi vd. (2012), inkübasyon öncesi ve embriyonik gelişimin ilk safhalarında amniyotik kesenin, embriyonik gelişimin daha sonraki aşamalarında ise genellikle sarı kesesinin in ovo enjeksiyon bölgesi olarak daha uygun olacağını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada in ovo olarak hava kesesine ve allantoik keseye uygulanan Marek aşısı hastalıktan korumada etkili olmazken, amniyotik sıvıya ve embriyoya uygulanan Marek aşısı civcivlerde yüksek korunma özelliğine sahip olmuştur (Wakenell vd., 2002). Başka bir çalışmada ekstra ve intra embriyo enjeksiyon uygulanan civcivlerde intra embriyonik enjeksiyon uygulamasında aşı etkenlerinin kana geçişinin daha erken olduğu ve hastalıktan korunma düzeyinin daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Islam vd., 2019).

1.3. İn Ovo Enjeksiyon Zamanı

Embriyonik gelişim başlangıcında (1-7. gün), embriyo tamamlama (8-14. gün) ve çıkış için hazırlık (15-21. gün) safhalarından oluşur (Jr., 2007). Söz konusu bu evrelerin beslenme ihtiyaçları ve embriyonik görevleri farklıdır. Dolayısıyla enjeksiyon zamanı, uygulanan maddeler için önemli bir faktördür ve enjeksiyon zamanının seçimi besinlerin biyolojik işlevine ve embriyonik gelişim sırasındaki beslenme gereksinimlerine dayanmalıdır (Zhu vd., 2018). Embriyo amniyon sıvısını embriyo gelişiminin son döneminde ağız yoluyla tüketmekte ve bağırsaklar işler hale gelmekte, alınan sıvı ile karaciğer ve kaslarda glikojen rezervi sağlanmakta, akciğer solunumu başlamakta, yumurta sarısı kesesi karın içine çekilmekte ve son gün kabuk, içeriden kırılmaya çalışılarak çıkış gerçekleşmektedir (Moran, 2007).

Yumurta sarısında bulunan besinler yumurta sarısı kesesinden embriyonik dolaşıma geçer ve yumurtadan çıkışın son günlerine doğru yumurta kesesinde kalan besinler

göbekten alınarak civciv yiyecek ve suya ulaşana kadar gereksinimler karşılar (Bauer vd., 2013).

Yapılan çalışmalardan, tavuk yumurtalarına besin enjeksiyonu için en uygun zamanın inkübasyonun 17 ila 18. günleri arasında olduğu sonucuna varılmıştır (Moosanezhad vd., 2011). Uni vd. (2005) ve Ohta vd. (2001) ise in ovo uygulamasının genellikle 17 ile 21. günler arasında yani geç embriyonik dönem ya da çıkış öncesi dönemde uygulandığını ifade etmişlerdir. Cardeal vd. (2015) özellikle erken embriyo döneminde in ovo besin enjeksiyonunu önermemektedir.

Wakenell vd. (2002) yumurtaların farklı bölgelerine Marek aşısı (MD) uygulamış, hava hücrelerine veya allantoik keseeye yapılan in ovo uygulamanın etkili bir bağışıklık tepkisi oluşturmadığını, amniyotik sıvıya veya embriyo gövdesine yapılan enjeksiyonda %94 oranında koruma sağlandığını bildirmiştir. Çalışmalar in ovo enjeksiyon embriyonik gelişimin başlangıcında uygulandığında kuluçka performansını azaltabileceğini göstermiştir (Cardeal vd., 2015).

Civcivin sağlıklı bir başlangıç yapması ve erken dönem performansı açısından inkübasyon sonrası ilk günlerde besin maddelerini optimum şekilde kullanması oldukça önemlidir. Civcivin besin madde ihtiyacı in ovo teknolojisinde göz önünde bulundurularak uygun zamanda ve hedeflenen amaca uygun besin maddesi enjekte edilmelidir (Uni vd., 2005; Ohta vd., 2001).

1.4. Glukoz

Glukoz canlı organizmaların ana enerji kaynağıdır (Styyer, 1995). Yumurtanın oluşum aşamasında embriyo gelişimi için gerekli enerji kaynaklarını oluşturacak besin maddelerinin yumurta içerisinde birikmesi gerekmektedir (Palmer ve Guilette, 1991; Vieira, 2007). Yaşamın ilk gününde etçi civcivler tarafından aminoasitler ve karbonhidratların sindirimi ve emilimi çok düşüktür ve esas olarak glukoz alımıyla sınırlıdır. Kuluçkadan çıkış gününde glüköz ve aminoasitlerin emilimi %43 ile %53

arasında değişebilir, ancak yavru büyüdükçe emilim artar ve 4. günde glikoz ve aminoasitlerin emilimi %80 'in üzerine çıkar (Noy ve Sklan, 2001).

Bir embriyonun hızlı büyümesi, yüksek enerji ihtiyacı ile ilgili olup, tavuk yumurtası, protein ve lipitler açısından zengindir, ancak karbonhidrat içeriği açısından fakirdir (Burley ve Vadehra, 1989). Glikoz, embriyolarda esas olarak karaciğerde ve glikolitik kaslarda glikojen formunda depolanır. Doğal karbonhidrat kaynağı, özellikle geç embriyogenez sırasında bir embriyonun metabolik ihtiyaçlarını karşılayamaz. Kandaki glikoz seviyesinin homeostatik düzenlenmesinde, bir embriyo, glukoneogenez gibi çeşitli metabolik süreçleri kullanarak enerji üretmeye zorlanır (Klasing, 1998).

Bununla birlikte, yumurtadan çıkma sırasında, embriyolar enerji üretimi için yağ asitleri yerine glikozu tercih eder, çünkü iç kuluçka sırasında oksijen mevcudiyeti sınırlıdır ve aynı miktarda tüketilen oksijen ile glikoz oksidasyonu, lipitlerin katabolizmasından daha fazla enerji sağlar. Sınırlı miktarda glikoz, bir embriyoyu lipolitik ve proteolitik süreçleri başlatmaya zorlar. Proteoliz, embriyo gelişimini olumsuz yönde etkileyen proteinlerin parçalanmasını içerdiği için elverişsiz bir süreçtir (Pearce ve Brown, 1971). Kuluçka döneminin sonuna doğru kanatlı embriyoları çıkış işlemi için gerekli olan glukozu karşılamak üzere enerji kaynaklarını kullanırlar. Kanatlılara en büyük glikojen kaynağı karaciğer ve glikolitik kaslardır (John vd., 1988; Christensen vd., 2001). Kuluçka döneminde glikojen kaynaklarının yetersiz olması durumunda, embriyo glikojenez olayı için kas proteinlerini kullanmakta, bunun sonucunda ise çıkış öncesi embriyo, çıkış sonrası civciv gelişim ve büyümesi kısıtlanmaktadır (Uni vd., 2005).

Yumurtadan çıkma işlemi, kaslara büyük miktarda enerji salınmasını gerektirir ve in ovo besleme, yumurtadan çıktıktan sonraki ilk günlerde ihtiyaç duyulan glikojenin depolanmasını önlemek için ekstra enerji sağlama amacına sahiptir. İn ovo beslemenin en iyi sonuçları takviye karbonhidratlarla yapıldığında bulunmuştur (Cardeal vd., 2015). Kuluçkanın son evresinde yumurta sadece %1 karbonhidrat içerdiğinden, bu miktar civcivin yumurta kabuğunu çatlatması için yeterli olmayabilir, aminoasitlerin ve yağ asitlerinin glikoneojenez yoluyla parçalanmasına yol açar ve yeni doğan civcivlerde metabolik strese neden olur (Salmanzadeh vd., 2011).

Karbonhidrat takviyesi sonucunda, daha yüksek vücut ağırlığı ve pektoral kas ağırlığı gözlemlenmiştir. Yumurtada bulunan uygun glikoz seviyesi, glikoneojenez yoluyla enerji üretmek için kas proteini kullanımını azaltır. Bu sebeple glikojen takviyesi veya glikojen seviyesinin artması, glukoneogenesisi aracılığıyla glukoz üretme ihtiyacında bir azalmaya, buna bağlı kas proteininin daha az kullanılmasına ve pektoral kas ağırlığı yüzdesinin artmasına neden olmaktadır. Geç dönem embriyonik fazda karbonhidrat takviyesi, gereken ekstra enerjiyi sağlamak için karaciğer dokusunun gramı başına 6 ila 12 mg glikojen ilave edilebilir (Uni vd., 2005; Foye vd., 2006).

Kuluçkadan çıkış öncesi dönemde meydana gelen başlıca fizyolojik süreçlerden biri, glikoz homeostazının sürdürülmesidir. Embriyolar kuluçka sürecinden geçerken glikojen rezervleri geri çekilir (Christensen vd., 1982; Lu vd., 2007). Yetersiz glikojen, embriyoyu glukoneogenez için daha fazla kas proteini harekete geçirmeye zorlar, böylece erken büyümeyi ve gelişimi azaltır (Vieira ve Moran, 1999).

Etlük piliç embriyonik gelişimi, çoğunlukla su, lipidler ve proteinler içeren yumurtada bulunan besinlere bağlıdır. Karbonhidratlar, toplam besinlerin %1'inden azını ve serbest glikoz yalnızca %0,3'ünü temsil eder. Kuluçka sırasında enerji gereksinimlerinin arttığı ve metabolizmanın glikojen depolarının kullanımına ve amino asitlerden glukoneogenezise doğru kaydığı düşünülürse, kuluçka sonundaki yoğun kas proteini yıkımı, kuluçkadan sonraki ilk günlerde civciv gelişimini tehlikeye atabilir. Hızlı embriyonik gelişime paralel olarak embriyonik metabolizmada kuluçka öncesi önemli değişiklikler meydana gelir. Amniyotik sıvının oral tüketimi, inkübasyonun yaklaşık 17. gününde başlar ve morfolojik değişiklikler ve enzimlerin ve taşıyıcıların artan ekspresyonu ve aktivitesi ile karakterize edilen bağırsak mukozasının hızlı gelişimini destekler (Givisiez vd., 2020).

İn ovo karbonhidrat takviyesi, geç embriyonik dönemde ihtiyaç duyulan daha fazla enerjiyi sağlayarak geç dönem embriyoların gelişimine yardımcı olur (Cardeal vd., 2015). Uni vd. (2005), karbonhidratlarla in ovo beslemenin geç dönem embriyoların

enerji durumunu arttırdığı ve etçi civcivlerin başlangıç performansını iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

1.5. Vitamin C (Askorbik asit)

Vitamin C veya askorbik asit, anti-stres, antioksidan ve bağışıklık düzenleme işlemi ile suda çözünen bir vitamindir. Bu nedenle üretim sürecinde piliçlerin bağışıklık ve antioksidan kapasitelerini artırmak için kullanılır (Khan vd., 2012; Abhilash vd., 2012; Jena vd., 2013; Zhu vd., 2018). Genel olarak askorbik asit, kortikosteronun düşmesine yol açarak bir anti-stres ajan olarak görev yapar (Pardue ve Thaxton, 1986; Satterlee vd., 1994). Düşük bağışıklık ve yüksek stres piliç endüstrisinde iki büyük sorundur (Zhu vd., 2018). Bir hidroksilaz kofaktörü olarak vitamin C glukojenezi teşvik edebilir ve daha yüksek besin içeriği nedeniyle embriyoların inkübasyon ortamına uyum sağlamasına yardımcı olabilir (Zhu vd., 2018).

Vitamin C damızlık yumurtalarda bulunmaz ve inkübasyonun 3. veya 4. gününde gelişen embriyo tarafından sentezlenebilir (Nowaczewski vd., 2012) ve inkübasyonun 15. gününden itibaren vitamin C konsantrasyonu düşer (Wilson ve Jaworski, 1992). İnkübasyonun ikinci dönemi boyunca metabolik ısının aşırı üretiminden kaynaklı olarak embriyo strese maruz kalabilir (Tullett, 1990). Stres ve vitamin C'nin azalmasına bağlı olarak kan kortikosteroid seviyesinde yükselmeler meydana gelir (Kutlu ve Forbes, 1994). Stres durumlarında kortikosteron daha fazla üretilir. Gelişmekte olan embriyolarda aşırı metabolik ısı üretimini artırır bu da ölü embriyoların sayısının artışına veya civcivlerin itlaf edilmesine sebep olur ve bu durum kuluçka randımanını düşürür (Tullett, 1990). Vitamin C plazma kortikosteron seviyesini ayarlamak suretiyle, artan kortikosteronun negatif etkilerini telafi eder (Seeman, 1991; Konca ve Yazgan, 2002).

Çalışmalar inkübasyon döneminde in ovo enjeksiyonunun aşırı ısınmadan kaynaklanan strese karşı direnci artırır ve dolayısıyla kuluçka randımanını, embriyoların yaşama gücünü, embriyo ağırlığını ve yumurtadan çıktıktan sonraki vücut ağırlığını arttırabileceğini göstermiştir (Tullett, 1990; Zakaria vd., 1998). Vitaminlerin koruyucu

etkileri kuluçkadan çıkış sonrası erken dönemde de civciv canlılığının sürdürülebilir olması açısından önemlidir (Surai, 2000).

Sıcaklık stresi, kümes hayvanlarında hücrelere ve hücre zarına zarar vererek, protein katabolizmasını artırır, protein biyosentezini azaltır ve vitamin C'nin tükenmesine yol açar. Rasyona vitamin C ve vitamin E ilavesi ısı stresinin zararlı etkilerinin azaltılmasına katkı sağlar (Şahin ve Küçük, 2001). Pardue ve Thaxton (1986), sıcak çevre koşullarında kan ve dokulardaki vitamin C seviyesinde önemli miktarda azalmalar olduğu ve eksojen olarak verilen vitamin C'nin kandaki vitamin C seviyesini yükselttiğini bildirmişlerdir. Ayrıca sıcak şartlarda kanatlılarda vücut ısısı bir miktar yükselir ve vitamin C bu yükselişi azaltır (Pardue ve Thaxton, 1986).

Vitamin C sentezi etlik piliçlerde hızlı büyümenin gerçekleştiği ilk haftalarda yetersiz kalmaktadır. Bu dönemde vitamin C seviyesinin düşmesi kas dokusu gibi hızlı büyüyen dokular tarafından kullanılmasından kaynaklanmaktadır (Yarsan ve Güleç, 2003). Khan vd. (2012), ısı stresinin yem alımında azalmaya, büyüme hızı, yumurta üretim ve kalitesi, bağışıklık düzeyi ve verimlilikte gerilemeye sebep olduğunu bildirmiştir.

Kanatlı endüstrisinde vitamin C farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Hayvan organizmasında kollajen sentezi, lipit metabolizması, inorganik demirin emilmesi, bağışıklık fonksiyonu, kemik ve kıkırdak oluşumu, serbest radikallere karşı koruma ve okside olmuş vitamin E'nin aktif formlara indirgenmesini içeren pek çok metabolizmaya dahil olmaktadır (Santos vd., 2018; Çelik ve Yılmaz, 2020). Ayrıca vitamin C doku onarımında ve bazı nörotransmitterlerin enzimatik üretiminde yer alan temel bir antioksidan besindir (Ghane vd., 2021).

1.6. Literatür Bilgi

Yumurtaya besin takviyesine artan bilimsel ilgi temel sebebi, verilen besin maddelerinin embriyoların yumurtanın kimyasal bileşimi ile ilgili sınırlamaları aşmasında yardımcı olması ve civcivleri yoğun üretime hazırlayabilmesidir. Bir tavuk yumurtasının kuluçka süresinin 21 gün olduğu unutulmamalıdır ki bu da ömrünün yaklaşık %60'ını oluşturur. Bu nedenle, embriyogenezin seyri ve özellikle bunun in ovo beslenmeyle uyarılma

olasılığı, etlik piliçlerde 35 günlük yaşamlarında daha büyük bir vücut ağırlığına (2,5 kg'ın üzerinde) ulaşmada kritik bir etkiye sahiptir (Kucharska-Gaca vd., 2017).

İn ovo teknolojisinin gelişimi beslenme uzmanlarına kümes hayvanları üretimini optimize etme fırsatları sağlayan prenatal beslenme için yeni bir kapsam oluşturmuştur. Bu teknik, kuluçka sonrası mortalite ve morbidite de azalma, erken yaşta besin maddesi kullanımının daha verimli olması, enterik antijenlere karşı geliştirilmiş bağışıklık tepkisi, gelişimsel iskelet bozukluklarının insidansında azalma, kas gelişimi ile göğüs eti veriminde artış sağlar (Noy ve Uni, 2010). Buna karşılık yumurtadan çıktıktan sonra beslemede gecikmeler, bodur büyümeye ve kas rezervlerinin kullanılmasına neden olur, bu da kasların zayıf gelişmesine ve sonuçta zayıf nihai büyüme ile sonuçlanır. Erken besleme, yumurtadan çıktıktan hemen sonra organların büyüme performansını ve gelişimini iyileştirmenin anahtarıdır (Lilburn vd., 1998).

Yumurtanın kimyasal bileşeni yıllar içinde değişmiştir. Karbonhidrat, vitamin, mineraller, amino asitler, uyarıcılar ve hormonlar gibi doğal bileşenlerin in ovo yöntemi ile yumurtaya verilmesi kanatlıların gelişimine destek sağlayabilir ve civcivlerin yoğun gelişim dönemine olumlu etkiler sağlayabilir. Yapılan çalışmalarda in ovo uygulaması ile besinlerin enjeksiyonunun etlik piliç embriyolarının yumurtadan çıkma öncesi ve sonrası fizyolojik durumunu etkiler. Doğru enjeksiyon sadece kuluçka performansını değil, aynı zamanda civcivlerin beslenme durumunu da iyileştirir ve büyümeye daha fazla katkı sağlar (Liu vd., 2011; Selim vd., 2012).

Üçtepe (2016) in ovo enjeksiyon tekniğinin çıkış gücü, vücut ağırlığı ve organ ağırlıklarının arttırması, hastalık ve ölüm oranını düşürmesi, yemden yararlanma oranının iyileştirmesi, iskelet, kas ve bağırsak gelişimin desteklemesi ve cinsiyet değiştirme üzerinde etkileri olduğunu bildirmiştir.

Çalışmalar, karbonhidratlar ve vitaminlerin büyüme performansını, sindirim sistemini geliştirip embriyonun vücut ağırlığını ve beslenme durumunu arttırdığını göstermiştir (Bhanja vd., 2004; Nowaczewski vd., 2012). Ingram vd. (1997) 25 mg'dan daha düşük seviyelerde in ovo uygulanan glukozun kuluçka çıkış gücünü, arttırdığını

bildirmişlerdir. Siwicki vd. (2000) embriyolara kuluçkanın 17. gününden sonra maltoz, sükröz, dektrin içeren solüsyon enjekte etmişlerdir. Çalışma sonunda in ovo uygulanan gruptan elde edilen civcivlerin in ovo uygulanmayan gruba göre civciv ağırlığı arasında 2 g farklılık tespit etmişlerdir. Bu farklılık 25 günlük yaşa geldiklerinde yaklaşık 60 g'a ulaşmıştır. Baykalır vd. (2021) döller kaz yumurtalarına 24 mg dekstroz ve 10 mg vitamin C'nin albumine in ovo uygulaması ile çıkış gücünde ve civciv ağırlığında artış, Kanagoraju ve Rathnapraba (2019), etlik piliç yumurtalarında amnion tabakasına kuluçkanın 18. gününde %25 glukozun kuluçka randımanı ve civciv ağırlığında artışa, dodenal, jejenum, villi yüksekliği, genişliğive kript derinliğinde önemli artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Ipek vd. (2004) ise yapmış oldukları çalışmada; 5, 10 ve 15 mg düzeyinde glukozu in ovo olarak enjekte etmişler ve çalışma sonunda glukoz enjeksiyonunun çıkış gücü ve civciv ağırlığı üzerinde herhangi bir olumlu etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Vitamin C'nin gerek yem katkısı gerekse in ovo olarak verilmesinin kuluçka sonuçlarına etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (Elibol vd., 2001; Ghonim vd., 2009). Ipek vd. (2004), yapmış oldukları çalışmada en yüksek çıkış gücünün 3 mg askorbik asit uygulanan gruptan elde ettiklerini, daha yüksek konsantrasyonlarda askorbik asit uygulamasının çıkış gücü üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Zakaria ve Al-Anezi (1996), Zakaria ve Al-Lakaria (1998), Zakaria ve Al-Latif (1998), yaptıkları çalışmada, Vitamin C uygulamasının farklı günlerde embriyo ağırlığı ve civciv ağırlığını arttırırken, embriyo ölümünü azalttığını bildirmişlerdir. Selim vd. (2012), askorbik asit içeren salin çözeltisinin in-ovo enjeksiyonunun, kontrol grubuna kıyasla (% 74) kuluçka yüzdesini (% 68) azalttığını bildirmişlerdir. Alsayed vd. (2014), etlik piliç yumurtalarına 6 ve 9 mg askorbik asit (C vitamini) enjekte edilen yumurtalardan çıkan civcivlerde kontrol grubuna göre yüksek canlı ağırlık, embriyonik ölümlerde önemli oranda düşüş gözlendiğini bildirmiş ve ekonomik açıdan in ovo beslemesini tavsiye etmiştir. Baykalır vd. (2021) döller kaz yumurtalarına 10 mg vitamin C'nin albumine in ovo uygulaması ile çıkış gücünde ve civciv ağırlığında artışa neden olduğunu bildirmiştir.

İnkübasyon sürecinde embriyonun vitamin C bakımından yetersizliğine maruz kalması embriyo gelişimi ve yaşama gücü üzerinde olumsuz etki yaratmaktadır (Richards ve Steele, 1987). Hou ve Tako (2008), in ovo besleme modelinin kullanılması yoluyla gelecekte yapılacak çalışmaların, bağırsak genel sağlığını ve özellikle sindirim ve emici yüzeyin işlevselliğini ve faydalı bakteri popülasyonlarını iyileştirebilecek bitki kaynaklı besinlerin ve biyoaktif bileşiklerin daha fazla kullanılmasına odaklanacağını bildirmiştir. Gastrointestinal sistem gelişimindeki bu gelişme, civcivler dış ortamın zorluklarına karşı daha hazırlıklı olduklarından, daha iyi kuluçka sonrası performansla da ilişkili olabilir (Zangeronimo vd., 2023).

İn ovo enjeksiyon teknolojisinde kullanılan diğer besin maddeleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Coşkun vd. (2014a), dömlü etlik piliç yumurtalarının amniyotik sıvılarına polen ekstraktı enjeksiyonunun kuluçka randımanı ve yumurta ağırlığına göre oransal civciv ağırlığını belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmada, polen ekstraktının kuluçkadan sonra daha ağır civciv elde etmek için in ovo besin maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Çelik ve Yılmaz (2020), in ovo vitamin E enjeksiyonunun uygulamasının kuluçka özellikleri, performans ve karkas kriterlerini etkilemediğini, Tahmasebi ve Toghyani (2016), arginin (yumurta başına 35 mg) ve treonin (yumurta başına 25 mg) enjeksiyonu ve bunların amniyon içine in ovo verilmesi, piliçlerin yemden yararlanma ve kuluçka sonrası büyüme oranını iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bazı minerallerin nanopartiküllerinin (yumurta başına 20, 40, 60 ve 80 µg çinko, yumurta başına 4, 8, 12 ve 16 µg bakır ve yumurta başına 0.075, 0.15, 0.225 ve 0.3 µg selenyum) in ovo verilmesi embriyo gelişimini ve kuluçka yüzdesini etkilemediği, yumurta başına sırasıyla 40 µg, 4 µg ve 0,225 µg çinko (2,16), bakır (2,46) ve selenyumun (2,51) in ovo verilmesi ile yemden yararlanmada önemli bir gelişme olmuştur (Joshua vd., 2016).

Tablo 1.1: Glikoz ve Vitamin C in ovo enjeksiyonlarına yönelik çeşitli araştırmalar

| Enjekte edilen hayvan grubu | Enjekte edilen madde | Enjeksiyon bölgesi | Enjekte edilen doz | Enjeksiyon zamanı | Etki | Kaynak |
|-----------------------------|------------------------------------|--------------------|---|-----------------------|---|----------------------------|
| Pekin ördeği | Vitamin C | Hava kesesi | 4 mg ve 8 mg | 20. gün | Çıkış gücünde önemli artış | Nowaczewski vd. (2012) |
| Kaz | Vitamin C | Hava kesesi | 8 mg | 24. gün | Çıkış gücü, civciv ağırlığı, civciv uzunluğu ve civciv kalitesinde artış | Pesmen G. (2023) |
| Mısır ördeği | Vitamin C | | 3 mg | 14. gün | Çıkış gücünde anlamlı artış | Ghonim vd. (2009) |
| Broiler | Vitamin C | Albumin | 3 mg | 17. gün | Civciv uzunluğunda azalma, çıkış gücü, civciv ağırlığında olumlu etki gözlenmemiş | Pourdolati (2014) |
| Broiler | Vitamin C | | 1, 3, 5, 7 mg | 13. gün | Çıkış gücünde artış | Ipek vd. (2004) |
| Broiler | Vitamin C | Amnion | 100 mg | 14. ve 15. günler | Çıkış gücünde artış, civciv ağırlığında artış | Çelik ve Yılmaz (2020) |
| Broiler | Vitamin C | Hava kesesi | 1, 3 mg | 15. gün | Çıkış gücünde ve civciv ağırlığında artış | Ghane vd. (2021) |
| Kaz | Vitamin C | Albumin | 10 mg | 11. 18. ve 25. günler | Çıkış gücünde düşme, civciv ağırlığında artış | Baykalır vd. (2021) |
| Broiler | Vitamin C | Hava kesesi | 3 ve 6 mg | 13. 15. ve 17. günler | Kuluçka performansında önemli bir artış gözlenmemiş | Nowaczewski vd. (2012) |
| Broiler | Vitamin C | | 3 mg | 13. gün | Embriyo ölümlerinde önemi oranda düşme | Elibol vd. (2021) |
| Broiler | Vitamin C | | 3 mg | 15. gün | Çıkış gücü, civciv ağırlığı ve civciv kalitesinde artış | Zakaria ve Al-Anezi (1996) |
| Broiler | Vitamin C | Albumin | %4 | | Çıkış gücü ve kuluçka randımanında etki gözlenmemiş | Sgavioli vd. (2013) |
| Broiler | Vitamin C | Yumurta sarısı | 3 mg | 15. gün | Çıkış gücü ve civciv ağırlığında olumlu etki gözlenmemiş | Zhu vd. (2018) |
| Broiler | Vitamin C+ Glycosaminoglycans | Albumin | 4 µg | 4. gün | Embriyonik ölümlerde düşme | Santos vd. (2018) |
| Broiler | Vitamin C Vitamin C+ folik asit | Hava kesesi | 6 µg 6 µg Vit C+150 µg Folik asit | 14. gün | Kuluçka randımanında artış, büyüme performansında iyileşme | Ismail vd. (2019) |
| Broiler | Glukoz | Hava kesesi | 5, 10, 15 mg | 18. gün | Çıkış gücünde olumlu etki gözlenmemiş | Ipek vd. (2004) |
| Broiler | Glukoz | Albumin | %15, %20, %25 | 7. gün | Çıkış gücünde düşme, civciv ağırlığında artış, yemden yararlanmada iyileşme | Salmanzadeh (2012) |

2. MATERYAL VE METOT:

Çalışma Uşak ili Eşme ilçesinde bulunan Gedik Piliç A.Ş. ne ait kuluçkahanede gerçekleştirilmiştir.

2.1 Materyal Temini

2.1.1. Yumurta materyali:

Çalışmada 35 haftalık yaştaki Cobb 500 broilerlerden elde edilen 62 ± 2 gr ağırlığındaki 600 adet döllü etlik piliç yumurtası kullanılmıştır.

2.1.2. Kimyasal Materyal

2.1.2.1 . Glukoz

Glukoz olarak; toz şeklinde D(+)-Glucose (CAS-No: 50-99-7, Merck, Almanya) isimli suda tamamen çözünebilen ürün kullanılmıştır.

2.1.2.2. Vitamin C

C vitamini olarak; toz şeklinde $C_6H_8O_6$ kimyasal formüle sahip, Ascorbic acid ticari isimli suda tamamen çözünebilen ürün kullanılmıştır.

2.2 . Metot

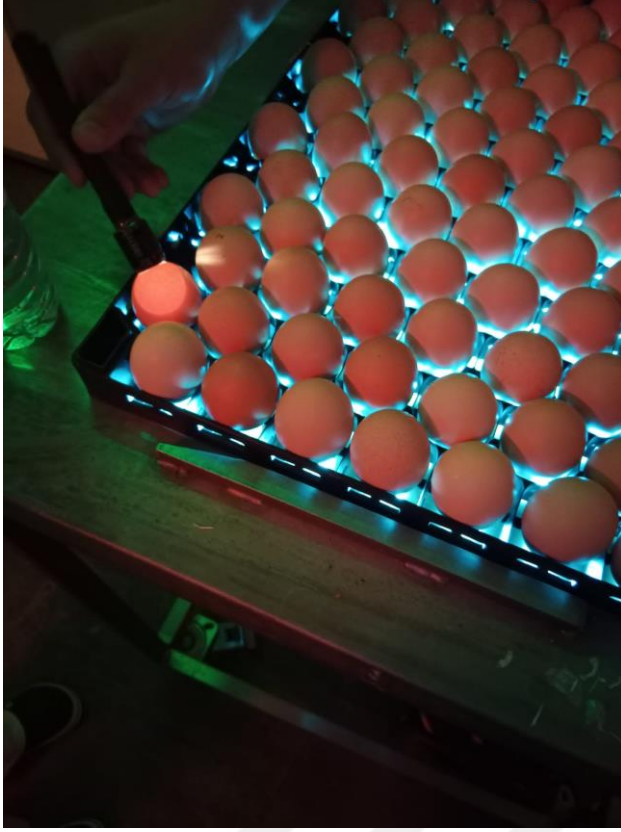
2.2.1. Kuluçka Aşaması

Etlik piliç (Cobb 500) kuluçkalık yumurtaları (600 adet), Gedik Piliç A.Ş.'ne ait kuluçkahanede inkübe edilmiştir.



Resim 3.2: Etlik piliç (Cobb 500) kuluçkalık yumurtaları

Yumurtalar kuluçka makinesine konulmadan önce hassas terazide tartılarak yumurta tablalarına yerleştirilerek inkübe edilmiştir. Çalışmada kuluçka işlemi Gedik Piliç A.Ş. kuluçkahanesinde yapılmıştır. Kuluçkanın 18. gününde yumurtalara döllülük muayenesi yapılarak dölsüz yumurtalar tablolardan uzaklaştırılmıştır.



Resim 4.2: Döllülük kontrolü

Her grupta 100 adet döllü yumurta olacak şekilde dağıtılarak deneme grupları Tablo 2'deki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 2.2: Deneme Grupları

| Grup | Uygulama | Denek sayısı |
|----------------------|---|---------------------|
| Kontrol (K) | Herhangi bir çözelti uygulanmamıştır | 100 |
| Negatif Kontrol (NK) | 0.1 ml deiyonize su/yumurta | 100 |
| Glukoz (10 mg) | Her yumurtaya 10 mg glukoz içeren 0.1 ml'lik deiyonize su enjekte edildi. | 100 |
| Glukoz (15 mg) | Her yumurtaya 15 mg glukoz içeren 0.1 ml'lik deiyonize su enjekte edildi. | 100 |
| Vitamin C (3 mg) | Her yumurtaya 3 mg vitamin C içeren 0.1 ml'lik deiyonize su enjekte edildi. | 100 |
| Vitamin C (6 mg) | Her yumurtaya 6 mg vitamin C içeren 0.1 ml'lik deiyonize su enjekte edildi. | 100 |

2.2.2. İn Ovo Uygulaması

Kuluçkanın 18. gününde döllü olarak tespit edilmiş 600 adet yumurta tepsilere yerleştirilmiştir. Tablo 2’de yer alan deneme gruplarına göre in ovo enjeksiyon uygulanmıştır. Uygulamada ilk olarak yumurtaların hava boşluğunun olduğu tepe noktası % 70’lik alkolle dezenfekte edildikten sonra mikro motor yardımıyla Resim 5 deki gibi delik açılmıştır ve insülin iğnesi yardımıyla hava kesesine Resim 6 daki gibi 0.1 ml’lik çözelti enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında açılan delik parafin bant ile kapatılarak yumurtalar çıkış tepsisine alınmış ve transfer bölümüne yerleştirilmiştir. İn ovo enjeksiyon uygulanmayan gruptaki yumurtalarda aynı sıcaklık ve süre ile dışarıda tutularak çevre şartlarının denemeye etkisi elemine edilmeye çalışılmıştır.



Resim 5.2: Yumurtalara mikro motor ile delik açılması



Resim 6.2: Yumurtalara in ovo uygulaması

2.2.3. İncelenen Parametreler

2.2.3.1. Çıkış Gücü (%)

Çıkış gücü, 18. gününde yapılan döllülük kontrolü sonucu döllü olduğu belirlenen yumurtalardan elde edilen civcivlerin oranı olarak değerlendirilir. Çıkış gücü, her grupta çıkan civciv sayısının döllü yumurta sayısına bölünmesiyle belirlenmiştir. Çalışmada çıkış gücü aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Çıkış Gücü (%) = Canlı civciv sayısı/döllü yumurta sayısı x 100 (Aksoy, 1999)



Resim 7.2: Yumurtadan çıkış sonrası civcivler

2.2.3.2. Civciv Ağırlığı (g)

Kuluçka işlemi sonunda her grupta yer alan civcivlerin 0.1 g hassasiyette elektronik terazide ağırlıkları tartılarak kaydedilmiştir.

2.2.3.3. Civciv Uzunluğu (cm)

Civciv uzunluğu (cm); civcivin gaga ucundan parmak ucuna kadar olan mesafe cetvel yardımı ile Resim 8 deki gibi alınmıştır (Aksoy, 1999; Wolanski vd., 2005).



Resim 8.2: Cıvciv uzunluğunun ölçümü

2.3. İstatiksel Analizler

Çalışmada cıvciv ağırlığı ve cıvciv uzunluğuna ait verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Çıkış gücü için ise non-parametrik analizlerden ve khi-kare testi kullanılmıştır. Verilerin analizinde SPSS paket programı kullanılmıştır (SPSS 13.00).

3. BULGULAR

3.1. Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Cıvciv Ağırlığı Üzerine Etkisi

Farklı dozlarda glukoz ve vitamin C enjeksiyonunun cıvciv ağırlığı üzerine etkileri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3.3: Cıvciv ağırlığı bakımından deneme gruplarının karşılaştırması ($P<0.05$).

| Gruplar | N | Min. | Max. | Mean | SD | P |
|------------------|----|-------|-------|---------------------|------|-------|
| Kontrol | 97 | 38,10 | 47,50 | 43,80 ^{bc} | 1,39 | 0,001 |
| Negatif Kontrol | 94 | 40,30 | 47,40 | 43,42 ^c | 1,31 | |
| Glukoz (10 mg) | 99 | 40,69 | 47,30 | 43,73 ^{bc} | 1,31 | |
| Glukoz (15 mg) | 39 | 41,55 | 48,70 | 44,52 ^a | 1,71 | |
| Vitamin C (3 mg) | 97 | 40,40 | 47,04 | 43,98 ^b | 1,26 | |
| Vitamin C (6 mg) | 98 | 39,76 | 47,05 | 43,83 ^b | 1,24 | |

* $P<0,01$ ^{a,b}: farklı harfler içeren gruplar arasında anlamlı bir fark vardır ($P<0,05$)

Çalışmada cıvciv ağırlıkları kontrol, negatif kontrol, glukoz (10 mg), glukoz (15 mg), Vitamin C (3 mg), Vitamin C (6 mg) gruplarında sırasıyla; $43,80\pm 1,39$; $43,42\pm 1,31$; $43,73\pm 1,31$; $44,52\pm 1,71$; $43,98\pm 1,26$ ve $43,83\pm 1,24$ olarak tespit edilmiştir. Cıvciv ağırlıkları değerleri arasında fark istatistiki anlamda önemli bulunmuştur ($P<0,05$). En yüksek cıvciv ağırlığı değeri glukoz deneme gruplarından glukoz (15 mg) grubunda, vitamin C deneme gruplarında ise vitamin C (3 mg) grubunda elde edilmiştir. Tüm deneme grupları arasında en düşük cıvciv ağırlığı değeri ise negatif kontrol grubundan elde edilmiştir.

3.2. Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Cıvciv Uzunluğu Üzerine Etkisi

Farklı dozlarda glukoz ve vitamin C enjeksiyonunun cıvciv uzunluğu üzerine etkileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4.3: Cıvciv uzunluğu bakımından deneme gruplarının karşılaştırması ($P>0.05$).

| Gruplar | n | Min. | Max. | Mean | SD | P |
|------------------|----|-------|-------|-------|------|-------|
| Kontrol | 97 | 17,00 | 19,70 | 18,19 | 0,75 | |
| Negatif Kontrol | 94 | 16,50 | 19,60 | 18,28 | 0,83 | |
| Glukoz (10 mg) | 99 | 16,50 | 20,00 | 18,19 | 0,81 | 0,276 |
| Glukoz (15 mg) | 39 | 17,00 | 19,40 | 17,98 | 0,57 | |
| Vitamin C (3 mg) | 97 | 16,50 | 20,00 | 18,33 | 0,95 | |
| Vitamin C (6 mg) | 98 | 16,00 | 19,60 | 18,28 | 0,78 | |

Çalışmada cıvciv uzunlukları kontrol, negatif kontrol, glukoz (10 mg), glukoz (15 mg), Vit C (3 mg), Vit C (6 mg) gruplarında sırasıyla; $18,19\pm0,75$; $18,28\pm0,83$; $18,19\pm0,81$; $17,98\pm0,57$; $18,33\pm0,95$ ve $18,28\pm0,78$ olarak tespit edilmiştir. Cıvciv uzunluğu değerleri arasında fark istatistiki anlamda önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). İstatistiksel olarak fark olmamasına rağmen en yüksek cıvciv uzunluğu değeri vitamin C deneme grupları arasında vitamin C (3 mg) grubunda, glukoz deneme gruplarında ise glukoz (10 mg) deneme grubundan elde edilmiştir. Tüm deneme grupları arasında en düşük cıvciv uzunluğu değeri ise kontrol grubu ve glukoz (15 mg) grubundan elde edilmiştir.

3.3. Farklı Dozlarda Glukoz ve Vitamin C Enjeksiyonunun Çıkış Gücü Üzerine Etkisi

Farklı dozlarda glukoz ve vitamin C enjeksiyonunun çıkış gücü üzerine etkileri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5.3: Çıkış gücü bakımından deneme gruplarının karşılaştırılması

| Gruplar | n | Çıkış Gücü (%) | P |
|------------------|-----|----------------|-------|
| Kontrol | 100 | 97 | 0.000 |
| Negatif Kontrol | 100 | 94 | |
| Glukoz (10 mg) | 100 | 99 | |
| Glukoz (15 mg) | 100 | 39 | |
| Vitamin C (3 mg) | 100 | 97 | |
| Vitamin C (6 mg) | 100 | 98 | |

Çalışmada çıkış gücü kontrol, negatif kontrol, glukoz (10 mg), glukoz (15 mg), vitamin C (3 mg), vitamin C (6 mg) gruplarında sırasıyla; %97,00; %94,00; %99,00; %39,00; %97,00 ve %98,00 olarak tespit edilmiştir. Glukoz deneme grupları arasında en yüksek çıkış gücü glukoz (10 mg) grubunda, en düşük çıkış gücü ise glukoz (15 mg) grubunda elde edilmiştir. Vitamin deneme grupları arasında ise en yüksek çıkış gücü vitamin C (6 mg) grubunda, en düşük çıkış ise vitamin C (3 mg) grubundan elde edilmiştir. Tüm deneme grupları içerisinde en yüksek çıkış gücü glukoz (10 mg) grubundan, en düşük çıkış gücü ise glukoz (15 mg) grubundan elde edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Çalışmada in ovo enjeksiyon uygulaması ile glukoz ve vitamin C kuluçkanın 18. gününde döllu olduğu belirlenen yumurtaların hava kesesine Tablo 2’de belirtilen dozlarda uygulanmıştır. Çalışma sonunda in ovo olarak verilen glukoz ve vitamin C’nin civciv ağırlığı, civciv uzunluğu ve çıkış gücü açısından değerlendirilmiştir.

4.1.Civciv Ağırlığı

Civciv kalitesinin değerlendirilmesinde görsel puanlama, civciv ağırlığı, Tona puanı ve civciv uzunluğu kullanılmaktadır (Şeremet, 2012). Bir günlük yaştaki civciv ağırlığı, civciv kalitesinin belirlenmesinde pratikte sıklıkla kullanılan bir kriterdir. Civciv ağırlığı etlik piliçlerde kesim ağırlığını etkileyen önemli bir parametre olsa da civciv kalitesinin değerlendirilebilmesi için tek başına yeterli bir parametre değildir (Meijerhof, 2006). Çünkü, çıkışta civciv ağırlığı sarı kesesiz vücut ağırlığı ve kalan sarı ağırlığının toplamıdır. Kalan sarı kesesi miktarı fazla ise civciv gelişiminin daha az ve kalitesinin düşük olduğu kabul edilir (Noy vd., 1996). Civciv ağırlığı yumurta ağırlığı ile yakından ilişkilidir. Kuluçka işlemi düzgün yapılırsa civciv ağırlığı yumurta ağırlığının üçte ikisi kadar olacaktır (Djanet vd. 2009).

Yapılan çalışmada inkübasyonun 18. gününde hava kesesine uygulanan 10 mg ve 15 mg glukoz civciv ağırlığında artışa yol açmıştır. Glukozun civciv ağırlığı üzerine etkileri üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde; Zhai vd. (2011) inkübasyonun 18.5. gününde enjekte edilen karbonhidrat (glukoz, sükroz, maltoz ve dekstrin) solüsyonunun civciv ağırlığını kullanılan hacimle pozitif olarak arttırdığını, Uni vd. (2005), embriyonik gelişimin son aşamasında karbonhidrat ve beta hidroksi beta metil bütirat enjeksiyonunun civciv ağırlığını %5-6 oranında arttırdığını ve 25 günlük yaşta karaciğer glikojen rezervlerini çoğalttığını bildirmiştir. Foye vd. (2006) in ovo karbonhidrat kullanımının civciv ağırlığını arttırdığını, Chen vd. (2009) yumurtaya glutamin ve

karbonhidrat (sükroz ve maltoz) uygulamasının civcivlerde ağırlık artışı sağladığını, Salmanzadeh (2012) inkübasyonun 7. gününde albümine in ovo glukoz ve magnezyum uygulamasının civcivlerin ilk gününde ve 42. gününde daha yüksek canlı ağırlığı ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Glukozun civciv ağırlığı üzerinde olumlu etkileri üzerinde yapılan çalışmalarda; Tangara vd. (2010) karaciğer glikojen konsantrasyonu ile vücut ağırlığı arasında yüksek korelasyon olduğunu ve yumurta sarısı kesesine verilen besinlerin albümine verilenlere kıyasla civciv ağırlığını daha fazla arttıracığını ifade etmişlerdir. Ohta vd. (1999) yumurtadan yeni çıkmış civcivlerin ağırlığını arttırmak için in ovo enjeksiyonun alternatif bir yöntem olduğunu, Cardeal vd. (2015) ise özellikle erken embriyonik dönemde in ovo besin takviyesini tavsiye etmemiş ve yumurtaya aşılana besinler arasında en iyi sonuçların karbonhidratlarda elde edildiğini bildirmişlerdir. Chen vd. (2009), karbonhidratların olumlu etkilerini bağırsakların gelişimini yumurtadan çıkma sırasında pektoral kaslarda protein tasarrufuna bağlı olarak pektoral kas ağırlığındaki artışla ilişkilendirmiştir. Yine aynı doğrultuda Bhanja vd. (2008) in ovo glukoz uygulamasının bağırsakların erken gelişimine yol açarak, civcivin yaşamının ilk günlerinde yemden daha iyi yararlanmasına izin verdiği sonucuna varmışlardır.

Yapılan çalışmada civciv ağırlığı bakımından vitamin C deneme grupları kontrol grubu ile anlamlı bir fark içermemesine rağmen vitamin C deneme gruplarında civciv ağırlığı kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur.

Selim vd. (2012) ördek yumurtaları üzerinde yapmış oldukları çalışmada 3 mg vitamin C in ovo uygulamasının civciv ağırlığında artış sağladığını bildirmiştir. Aynı doğrultuda Çelik ve Yılmaz (2020) inkübasyonun 14. ve 15. günlerinde 100 mg vitamin C uygulamasının civciv ağırlığında artışa, Ghane vd. (2021), inkübasyonun 15. gününde 1 mg ve 3 mg vitamin C uygulamasının civciv ağırlığında artışa, Baykalır vd. (2021) kaz yumurtalarında inkübasyonun 11. 18. ve 25. günlerinde 10 mg vitamin C uygulamasının civciv ağırlığında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Zakaria ve Al-Anezi (1996) ise inkübasyonun 15. gününde 3 mg vitamin C uygulamasının civciv ağırlığında artışa sebep olurken, 12 mg vitamin C uygulamasının

civciv ağırlığında düşüne neden olduğunu bildirmişlerdir. Zhu vd. (2018) inkübasyonun 15. gününde yumurta sarısına 3 mg vitamin C uygulamasının civciv ağırlığında olumlu bir etkiye sahip olmadığını bildirmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar enjekte edilen dozun ve enjeksiyon bölgesinin farklılığından kaynaklandığı söylenebilir.

4.2.Civciv Uzunluğu

Civciv uzunluğu; ölçülmesi hızlı, tekrarlanabilir ve hayvana zarar vermeyen, civciv kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir ve gerek kuluçka performansı gerekse civcivin göstereceği potansiyel performansının değerlendirilebilmesinde kullanılabilen bir araçtır (Şeremet, 2012). Civciv uzunluğu etlik piliç yetiştiriciliğinde performans üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yumurtacı tip civcivler için bu özellik önemli değildir. Çünkü bu civcivler 18 haftalık yetiştirme döneminde vücut gelişimini telafi edebilirler (Djanet vd. 2009). Yapılan araştırmalara göre 0. gündeki civciv uzunluğu ile 7. gün canlı ağırlığı arasında pozitif korrelasyon olduğu ve kuluçkadan çıkışta daha uzun olan civcivlerin daha iyi gelişmiş organlara sahip olabileceğini ifade edilmiştir. Reijrink ve Molenaar (2006), kuluçkadan çıkan civcivlerin uzunlukları ile iç organ ağırlıklarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, uzun civcivlerde kalp, karaciğer ve dalak ağırlıklarının kısa civcivlere göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Şeremet (2012) ise, sindirim sisteminin uzunluğunun civciv uzunluğuna paralel olarak arttığını uzun civcivlerde barsak sisteminin daha iyi geliştiğini bildirmişlerdir (Şeremet, 2012).

Yine Wolanski vd. (2003) ve Meijerhof (2006), civciv uzunluğu ile sarı kesesiz civciv ağırlığı ve çıkış sonrası dönemde büyüme performansı arasında yüksek ve pozitif bir korrelasyon bulunduğunu ifade etmişlerdir. Salahi vd. (2011), civciv kalitesinde önemli faktörlerden biri olan civciv uzunluğundaki artışın daha yüksek kesim ağırlığına yol açabileceğine, ayrıca vücut uzunluğu daha uzun olan civcivlerde karaciğer, kalp ve dalak daha iyi ve daha fazla geliştiğini bildirmiştir.

Yapılan çalışmada civciv uzunluğu bakımından deneme grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ancak en yüksek civciv uzunluğu vitamin C (3 mg ve 6 mg)

deneme gruplarında elde edilmiştir. En düşük civciv uzunluğu ise glukoz (15 mg) deneme grubundan elde edilmiştir.

Pourdolati (2014), kaz yumurtalarında inkübasyonun 14. gününde in ovo uygulanan 3 mg vitamin C'nin civciv uzunluğunda azalmaya sebep olduğunu bildirmiştir. Çeşitli araştırmalar yumurtalara karbonhidrat enjeksiyonunun faydalarını göstermiş olsa da (Tako vd., 2004; Salmanzadeh, 2012), sonuçlar hala tutarsızdır ve enjekte edilen karbonhidrat türüne, enjeksiyon zamanı ve bölgesine bağlıdır (Leitao vd., 2008; Santos vd., 2010). İn ovo uygulamasının başarısında inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi, damızlığın yaşı, kullanılan ajanın türü ve miktarı ve enjeksiyon bölgesinin etkili olduğu bildirilmiştir (Ohta ve Kidd, 2001). Baykalır vd. (2021) döllu kaz yumurtalarında D-glikoz monohidrat ve vitamin C karışımının kuluçkanın 25. gününde in ovo olarak verilmesinin en iyi sonuçlar getirdiğini bildirmiştir.

Kontecka vd. (2005), 1 kg rasyona 500 mg vitamin C ile desteklenmiş rasyonlarla beslenen ördeklerden daha kaliteli ördek yavrularının çıktığını belirtmiş ve bu sonucun C vitamininin anti-stres etkisinden kaynaklandığını bildirmiştir. Yine Nowaczewski ve Kontecka (2005) tarafından C vitamini ile takviye edilmiş rasyonla beslenen sülünlerde yumurtadan çıkan sakat civciv sayısında azalma eğilimi olduğu bildirilmiştir.

4.3.Çıkış gücü

Yapılan çalışmada 10 mg glukoz kuluçka çıkış gücünde iyileştirme sağlarken, 15 mg glukoz uygulaması çıkış gücünü önemli ölçüde düşürmüştür (Tablo 5). Glukoz (10 mg) deneme grubunda çıkış gücündeki iyileşme Chen vd. (2010)'e göre, in ovo karbonhidrat beslemesinin glikojen rezervini iyileştirerek civcive çıkış için gerekli enerjiyi sağlamasından kaynaklanmaktadır. Glikoliz döngüsünün önemli rolü, embriyonik dönemde enerji üretimidir. Yumurtaya glukoz enjeksiyonu, fetal enerji kaynağından daha iyi ve daha kolay kullanılması için iyi bir çözüm olabilir. Dolayısıyla bu durum kasın enerji olarak protein tüketimini azaltmasına neden olur, sonuç olarak; yumurtadan çıkan civcivlerin arttığı gözlenir (Uni vd. 2005). Ingram vd. (1997) düşük seviyelerde glukozun kuluçka randımanını önemli ölçüde iyileştirdiği, tersine Leiato vd. (2008)

inkübasyonun 16. gününde 0.6 ml glukoz kullanımının, embriyo ölümlerini arttırdığını ve yumurtadan çıkış gücünü azalttığını, Salmanzadeh (2012) inkübasyonun 7. günü albümen sıvısına enjekte edilen %15, %20, %25 glukoz çözeltilerinin düşük çıkış gücüne sebep olduğunu, Zhai vd. (2011) inkübasyonun 18.5 gününde enjekte edilen karbonhidrat solüsyonu hacminin artmasıyla kuluçka kabiliyetinin olumsuz etkilendiğini bildirmiştir. Ayrıca, Adriana vd. (2006), civciv embriyolarına inkübasyonun 16. gününde glukoz in ovo enjeksiyonu ile kuluçka randımanının azaldığını gözlemlemişlerdir.

Ebrahimnezhad vd. (2011) in ovo glukoz beslemesinin negatif etkisinin, kullanılan maddenin alerjik özelliklerinden kaynaklanabileceğini, Ipek vd. (2004) ırk, sürü yaşı, yumurta boyutu, enjeksiyon zamanı, enjeksiyon yeri ve kullanılan dozun glukozun üzerinde etkiye sahip olabileceğini, Cardeal vd. (2015) olumsuz etkilerin çoğunlukla enjekte edilen hacimden kaynaklandığını, Salmanzadeh (2012) gelişmekte olan embriyonun hava kesesinin altındaki solunumu durduran alerjik reaksiyondan kaynaklandığını, Ohta ve Kidd (2001) ise embriyonun besin maddesinden faydalanmasının in ovo enjeksiyon bölgesine bağlı olarak etkili olduğunu bildirmiştir.

Campos vd. (2011), Retes vd. (2018), enjekte edilen çözelti hacminin kuluçka kabiliyetini etkileyebileceğini, Zhai vd. (2011), fazla solüsyonun yumurtaların iç nemini etkileyerek kuluçkayı zorlaştırabileceğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte, Pedroso vd. (2006), embriyo tarafından tolere edilen maksimum enjeksiyon hacminin yumurta boyutu ile ilişkili olabileceğini öne sürmüştür. Coşkun vd. (2014b), enjeksiyon zamanı ve enjeksiyon derinliğinin kuluçka kabiliyetini derinden etkilediğini bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada 3 mg vitamin C kuluçka çıkış gücünde önemli bir etki göstermezken, 6 mg vitamin C çıkış gücünü olumlu yönde etkilemiştir. Zhu vd. (2018) yaptıkları çalışmada inkübasyonun 15. gününde in ovo verilen 3 mg vitamin C içeren 0.1 ml solüsyonun yüksek çıkış gücü sağladığı, Nowaczewski vd. (2012) ördek yumurtalarında vitamin C in ovo enjeksiyonunun yumurtadan civciv çıkışını olumlu etkilediğini bildirmiştir. Bu sonuçlar yapılan çalışma ile uyumludur. İnkübasyonun 10. gününden sonra metabolik ısının artması nedeniyle civciv embriyoları stres faktörlerine maruz kalmakta ve ölüm oranı artmaktadır (Tullett, 1990). Bu nedenle en yüksek çıkış elde

edilen 6 mg vitamin C enjeksiyonunun embriyodaki ısı stresini azaltmada rolü olduğu söylenebilir. Çıkış gücündeki artış bu etkinin bir göstergesi olabilir.

Sgavioli vd. (2015), in ovo enjekte edilen vitamin C'nin çıkış gücünü olumsuz etkilediğini, yine Zakaria ve Al-Latif (1998) yumurtaya erken dönemde ve aşırı miktarda verilen vitamin C'nin kuluçka performansını olumsuz etkilediğini, vitamin C enjeksiyonu için en uygun zamanın inkübasyonun 11. ve 15. günler arasındaki dönem olduğunu ifade etmişlerdir. Tullett (1990) ise, yumurtaya enjekte edilen vitamin C'nin çıkış gücündeki olumlu etkisini, kortikosteron üretiminde aktif rol alan enzimlerin sentezini inhibe eden adrenal bez metabolizması üzerindeki değiştirici etkisine bağlamıştır. Genç damızlıklarda yumurta ağırlıkları düşmesine rağmen elde edilen yumurtaların daha iyi albumen kalitesine ve daha yüksek çıkım gücüne sahip olduğu dolayısıyla daha fazla sayıda kaliteli civciv elde edildiğini bildirmiştir (Tona vd., 2004). Çalışmalar arasındaki farklılıklar enjekte edilen solüsyonun konsantrasyonu, enjekte edilen yumurta bölgesi (hava kesesi, amniyon, allantoik sıvı, yumurta sarısı) ve enjeksiyon zamanına (erken veya geç embriyonik dönem) bağlı olarak meydana gelebilir (Sgavioli vd., 2017).

İn ovo teknolojisi ile ilgili yapılan çalışma sonuçlarında; in ovo enjeksiyonunda başarının, uygulanacak besin maddesi, uygulama zamanı ve dozuna bağlı olduğu görülmüştür. Farklı maddeler (aşılar hariç), enjeksiyon yerleri ve enjeksiyon zamanları ile yapılan deneylerin değişken sonuçlarından da anlaşılacağı üzere, her madde veya madde grubu için standartlaştırılmış bir enjeksiyon yöntemi olması gerekir. Ayrıca in ovo enjeksiyon uygulaması, yeterli besini yumurtaya geçirmekte zorluk yaşayan etlik piliçlerde yumurtalar için düzeltici besin bileşimi sağlayabilir ve civcivlerin besin eksikliklerini giderebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışma neticesinde;

1. Glukoz deneme gruplarında en yüksek civciv ağırlığı glukoz (15 mg) grubunda, en yüksek civciv uzunluğu glukoz (10 mg) grubunda, en yüksek çıkış gücü glukoz (10 mg) grubunda tespit edilmiştir.
2. Vitamin C deneme gruplarında en yüksek civciv ağırlığı vitamin C (3 mg) grubunda, en yüksek civciv uzunluğu vitamin C (3 mg) grubunda, en yüksek çıkış gücü vitamin C (6 mg) grubunda tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, glukoz (15 mg) deneme grubu hariç civciv ağırlığı ve civciv uzunluğu parametrelerini olumsuz etkilemeksizin 10 mg'a kadar glukoz enjeksiyonunun ve 6 mg' a kadar vitamin C enjeksiyonunun etlik piliç civcivlerinin daha yüksek çıkış özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir. İn ovo enjeksiyon teknolojisi ile ilgili yapılan çalışma sonuçlarında; in ovo enjeksiyonunda başarının, uygulanacak besin maddesi, uygulama zamanı ve dozuna bağlı olduğu görülmüştür. Farklı maddeler (aşılar hariç), enjeksiyon yerleri ve enjeksiyon zamanları ile yapılan deneylerin değişken sonuçlarından da anlaşılacağı üzere, her madde veya madde grubu için standartlaştırılmış bir enjeksiyon yöntemi olması gerekir.

İn ovo enjeksiyon teknolojisinin olumlu etkileri kuluçka performansı düşük kanatlıların döllü yumurtaları için de çalışılması gereken bir konu olup, söz konusu türler üzerindeki etkilerini incelemek literatüre katkı sağlayacaktır. Ayrıca in ovo enjeksiyon uygulamaları strese maruz kalan veya yaşlı etçi damızlıklardan elde edilen yumurtalarda denenmesiyle daha olumlu sonuçlar elde edilecektir.

6. KAYNAKLAR

- Abdulqader, A.F., Olgun, O., Yıldız, A.Ö. (2017). In ovo besleme. *Hayvansal Üretim*, 58(2): 58–65.
- Abhilash, P.A., Harikrishnan, R., Indira, M. (2012). Ascorbic acid supplementation down-regulates the alcohol induced oxidative stress, hepatic stellate cell activation, cytotoxicity and mRNA levels of selected fibrotic genes in guinea pigs. *Free Radical Research*, 46: 204–213.
- Adriana, A.P., Leandro, S.C., Karina, A.M.L., Nadja, S.M.L., Marcos, B.C. and José, H.S. (2006). Nutrient inoculation in eggs from heavy breeders *Rev. Bras. Zootecn.* 5: 2018–2026.
- Aksoy, F.T. (1999). Tavuk Yetiştiriciliği. 3. Baskı, Şahin Matbaası
- Alsayed, O., El-Gendi, G.M., Samak, H.R., El-Garhy, O.H., Elshony, S.A. (2014). Effect of ascorbic acid injection for incubation eggs of broiler breeders on hatchability and productivity of chicks. 2nd International Conference on Biotechnology Applications In Agriculture (ICBAA), Benha University, Moshtohor and Hurghada, 8-12, April 2014, Egypt.
- Arain, M.A., Nabih, F., Shah, Q.A., Alagawany, M., Fazlani, S.A., Khalid, M. (2022). The role of early feeding in improving performance and health of poultry: herbs and their derivatives. *World's Poult Sci J.* 78(2): 499–513.
- Ataei, A.H. and Kırkpınar, F. (2021). Application of in-ovo injection of some substance for manipulation of sex and improving performance in chicken. 5th International Students Science Congress. Congress Proceedings Book (p.36).
- Bauer, R., Plieschnig, J.A., Finkes, T., Riegler, B., Hermann, M., and Schneider, W.J. (2013). The developing chicken yolk sac acquires nutrient transport competence by an orchestrated differentiation process of its endodermal epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288: 1088-1098.
- Baykalir, Y., Iflazoglu, M.S., Erisir, Z. (2021). The Effects of In-Ovo Injected D-Glucose Monohydrate and Ascorbic Acid on Hatchability, Body Weight and Early Post-Hatch Performance of Geese. *European Journal of Veterinary Medicine*, 1(1): 1-6.
- Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Goswami, T.K. (2004). Effect of in ovo injection of amino acids on growth, immune response, development of digestive organs and carcass yields of broiler. *Indian J. Poult. Sci.* 39: 212–218.
- Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Agarwal, S.K., Majumdar, S. (2008). Effect of in ovo glucose injection on the post hatch-growth, digestive organ development and blood biochemical profiles in broiler chickens. *Indian J. Anim. Sci.* 78: 869–872.
- Burley, R.W., Vadehra, D.V. (1989). The avian egg chemistry and biology. New York, USA, John Wiley and Sons.

- Campos, A.M.A., Rostagno, H.S., Gomes, P.C., Silva, E.A., Albino, L.F.T., Nogueira, E. T. (2011). Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40: 1712–1717.
- Cardeal, P.C., Caldas, E.O.L., Lara, J.C., Rocha, J.S.R., Baião N.C., Vaz, N.R., Da Silva, M. (2015). In ovo feeding and its effects on performance of newly-hatched chicks. *World's Poultry Science Journal*, 71(4): 655-662.
- Chen, W., Wang, R., Wan, H.F., Xiong, X.L., Peng, P., Peng, J. (2009). Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. *Brit. Poultry Sci*, 50: 436–442.
- Chen, W., Xu, J., Tangara, M., Peng, J. (2010). Effects of In ovo injecting disaccharides and alanyl-glutamine dipeptide on the energy status in duck embryos and neonates. *Animal Reproduction Science*, 122: 29–35.
- Christensen, V.L., Biellier, H.V., Forward, J.F. (1982). Physiology of turkey embryos during pipping and hatching II. Selected blood parameters. *Poult. Sci.* 61:143–149.
- Christensen, V.L., Wineland, M.J., Fassenko, G.M., Donaldson, W.E. (2001). Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. *Poultry Science*, 80: 1729-1735
- Çelik, L., Açıkgoz, Z. (2006). Kanatlı Hayvanlarda Sindirim Sisteminin Gelişimi ve Besleme İle Sindirim Sisteminin Gelişimi Arasındaki İlişki. *Hayvansal Üretim*, 47(2): 38-47.
- Çelik, L., Yılmaz, Ç.D. (2020). Yumurta İçi (In Ovo) Vitamin C Ve Vitamin E Uygulamasının Kuluçka Parametreleri İle Cıvcıvlerin Performansına Etkileri. *Ç.Ü Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, Yıl 2020 Cilt: 39-8
- Coşkun, İ., Çayan, H., Yılmaz, Ö., Taşkın, A. Tahtabiçen, E., Samlı, H.E. (2014a). Effects of In Ovo Pollen Extract Injection to Fertile Broiler Eggs on Hatchability and Subsequent Chick Weight. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(4): 485–489.
- Coşkun, I., Erener, G., Sahin, A., Karadavut, U., Altop, A., Okur, A.A. (2014b). Impacts of In Ovo Feeding of DL-Methionine on Hatchability and Chick Weight. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 2(1): 47-50.
- Cöner, F.I. (2020). Yumurta İçi (In Ovo) Glikoz ve Glutamin Uygulamasının Broyler Cıvcıvlerde Çıkım Randımanı, Bağırsak Histomorfolojisi ve Sindirim Enzimleri Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Djanet, O., Schulte-Drüggelte, R. and Tierzucht. L. (2009). Review of different day-old chick quality parameters in layer type breeds." *International Poultry Production* 23: 15-19.
- Druy, S. (2010). The effects of genetic line (broilers vs. layers) on embryo development. *Poultry Sci.*, 89: 1457–1467.
- Ebrahimi, M.R., Ahangari, Y.J., Zamiri, M.J., Akhlaghi, A., Atashi, H. (2012). Does pre-incubational in ovo injection of buffers or antioxidants improve the quality and hatchability in long-term stored eggs. *Poultry Science*, 91: 2970-2976.

- Ebrahimnezhad, Y., Salmanzadeh, M., Aghdamshahryar, H., Beheshti, R., Rahimi, H. (2011). The effects of in ovo injection of glucose on characters of hatching and parameters of blood in broiler chickens. *Annals of Biological Research*, 2(3): 347-351.
- Efil, M.M. (2014). Kanatlı Hayvanlarda Bağırsak Sağlığı ve Beslenme Arasındaki İlişki. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 33(1,2): 57-61.
- Elibol, O., Türkoğlu, M., Akan, M., Erol, H. (2001). İnkubasyon sırasında ağır yumurtalara askorbik asit enjeksiyonunun kuluçka özelliklerine etkisi, *Turk Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25: 245-248.
- Emmerson, D.A. (1997). Commercial approaches to genetic selection for growth and feed conversion in domestic poultry. *Poultry Sci.*, 76: 1121–1125
- Foye, O.T., Uni, Z., Ferket, P.R. (2006) Effect of in ovo feeding egg white protein, β -hydroxy- β -methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. *Poultry Science*, 85: 1185-1192
- Geyra, A., Uni, Z., Sklan, D. (2001). Enterocyte Dynamics and mucosal development in the post-hatch chick. *Poult. Sci.*, 80: 776-782.
- Ghane, F., Qotbi, A.A.A., Slozhenkina, M., Mosolov, A.A., Gorlov, I., Seidavi, A., Colonna, M.A., Laudadio, V., Tufarelli, V. (2021). Effects of in ovo feeding of vitamin E or vitamin C on egg hatchability, performance, carcass traits and immunity in broiler chickens. *Animal Biotechnology*, 34(2).
- Ghonim, A.I.A., Awad, A.L., Fattouh, M.H.A., El-Shhat, A.M. (2009). Comparative study of ascorbic acid treatment methods on hatchability traits and growth performance of ducklings. *Egypt Poult. Sci.*, 29: 1085-1099.
- Givisiez, P.E.N., Alexandre, L.B., Moreira, F., Maylane, Y., Santos, R.B., Heraldo, B., Oliveira, B., Peter, R., Ferket, R., Celso, J., Oliveira, B., Ramon, D.M. (2020). Chicken embryo development: metabolic and morphological basis for in ovo feeding technology. *Poultry Science*, 99: 6774–6782.
- Hajihosaini, M., Mottaghitalab, M. (2004). Effect of aminoacid injection in broiler breeders eggs on hatchability and growth of hatched chicken. *J. Agric Sci*, 1(3):23-32.
- Hargis, P.S., Pardue, S.L., Lee, A.M., Sandel, G.W. (1989). In ovo growth hormone alters the growth and adipose tissue development of chickens. Growth, development, and aging: *GDA.*, 53(3): 93-9.
- Havenstein, G.B., Ferket, P.R., Qureshi, M.A. (2003). Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult. Sci.*, 82: 1500-1508
- Hou, T.D., Tako, E. (2018). The In Ovo Feeding Administration (Gallus Gallus)-An Emerging In Vivo Approach to Assess Bioactive Compounds with Potential Nutritional Benefits. *Nutrients*, 10: 418.
- Ingram, D.R., Floyd, S.A., Barr, J.W., Pittman, S.T. (1997). Influence of in ovo injection of glucose on subsequent body weight. *Poult. Sci.*, 76 (1;51).

- Ipek, A., Sahan, U., Yılmaz, B. (2004). The effect of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. *Arch. Geflügelk.*, 68(3): 132 – 135.
- Islam, A.M.F., Walkden-Brown, S.W., Wong, C.W., Groves, P.J., Burgess, S.K., Arzey, K.E., Young, P.L. (2019). Influence of Vaccine Deposition Site on Post-Vaccinal Viraemia and Vaccine Efficacy in Broiler Chickens Following In Ovo Vaccination Against Marek's Disease. *Avian Pathology*, 30: 525-533.
- Ismail, F.S.H., Beshara, M.M., El-Gayar, M. (2019). Effect of In-Ovo Injection of Ascorbic, Folic Acids and their Combination on Hatchability and Subsequent Growth Performance of Broiler Chicks. *J. of Animal and Poultry Production*, 10(9): 289-295.
- Jena, B.P., Panda, N., Patra, R.C., Mishra, P.K., Behura, N.C., Panigrahi, B. (2013). Supplementation of vitamin E and C reduces oxidative stress in broiler breeder hens during summer. *Food and Nutrition Sciences*, 4: 33–37.
- John, T.M., George, J.C., Moran, Jr. E.T. (1988). Metabolic changes in pectoral muscle and liver of turkey embryos in relation to hatching: influence of glucose and antibiotic treatment of eggs. *Poultry Science*, 67: 463-469.
- Johnston, P.A., Liu, H., O'Connell, T., Phelps, P., Bland, M., Tyczkowski, J., Kemper, A., Harding, T., Avakian, A., Haddad, E., Whitfill, C., Gildersleeve, R., Ricks, C.A. (1997). Applications in In Ovo Technology. *Poultry Sci.*, 76: 165-178.
- Joshua, P.P., Valli, C., Balakrishnan, V. (2016). Effect of *in ovo* supplementation of nano forms of zinc, copper, and selenium on post-hatch performance of broiler chicken. *VetWorld*, 9: 287-294.
- Jr, M.E. (2007). Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 86: 1043-1049.
- Kadam, M.M., Barekatin, M.R., Bhanja, S.K., Iji, P.A. (2013). Prospects of In Ovo Feeding and Nutrient Supplementation for Poultry: The Science and Commercial Applications-A Review. *J. Sci. Food Agric.* 93: 3654-3661.
- Kanagaraju, P. (2014). Effect of in ovo feeding and early chick nutritional supplement on growth performance of hybrid broiler chicken. Ph. D thesis. Tamil Nadu Veterinary and Animal Sciences University, Chennai, Tamil Nadu.
- Kanagaraju, P., Rathnapraba, S. (2019). Effect of in-ovo injection of glucose and egg white protein on the production performance and gut histomorphometry of broiler chicken. *Indian J. Anim. Res.*, 53(5): 675-679.
- Khan, R.U., Naz, S., Nikousefat, Z., Selvaggi, M., Laudadio, V., Tufarelli, V. (2012). Effect of ascorbic acid in heat-stressed poultry. *Worlds Poultry Science Journal*, 68: 477–490.
- Klasing, K.C. (1998). Carbohydrates in comparative avian nutrition. *CAB Int.*, 201–209.
- Kop, B., Konanç, C.K., Ocak, N., Öztürk, E. (2016). Yumurta İçi (In Ovo) Propolis Enjeksiyonunun ve Enjeksiyon Yerinin Kuluçka Randımanı, Cıvıv Çıkış Ağırlığı ve Yaşama Gücüne Etkileri. *Turkish Journal of Agricultural Research*. 3(1): 48-54.

- Konca, Y., Yazgan, O. (2002). Yumurta tavuklarında sıcaklık stresi ve vitamin C. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 43(2): 16-25.
- Kontecka, H., Nowaczewski, S., Ksikiewicz, J., Rosinski, A., Kouszek, R. (2005). Effect of vitamin C supplementation on the reproduction performance of ducks and body weight of ducklings. *Scientific Papers of Agricultural University of Poznań, Anim. Sci.* 7: 19-27.
- Kornasio R., Halevy O., Kedar O., Uni Z.(2011) Effect of in ovo feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. *Poult Sci.* 90(7):1467–77.
- Kutlu, H.R., Forbes, J.M. (1994). Responses of Broiler Chicks to Dietary Ascorbic Acid and corticosterone. *Br. Poult. Sci.*, 35: 184–186.
- Kucharska-Gaca, J., Kowalska, E., Dębowska, M. (2017). Feeding–Technology of the Future–A Review. *Ann. Anim. Sci.*, 17(4): 979–992.
- Kutlu, H.R., Şahin, A. (2017). Kanatlı Beslemede Güncel Çalışmalar ve Gelecek için Öneriler. *Hayvansal Üretim.* 58(2): 66-79.
- Leitao, R.A., Leandro, N.S.M., Cafe, M.B., Stringhini, J.H., Pedroso, A.A., Chaves, L.S. (2008). Inoculation of glucose in ovo of broiler breeders/eggs: incubation parameters and initial performance. *Ciência Animal Brasileira*, 9: 847-855.
- Lilburn, M. (1998). Practical aspects of early nutrition for poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7(4): 420-424.
- Liu, H.H., Wang, J.W., Chen, X., Zhang, R.P., Yu, H.Y., Jin, H.B., Han, C.C. (2011). In ovo administration of rhIGF-1 to duck eggs affects the expression of myogenic transcription factors and muscle mass during late embryo development. *Journal of Applied Physiology*, 111(6): 1789-1797.
- Lu, J.W., McMurtry, J.P., Coon, C.N. (2007). Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. *Poult. Sci.*, 86: 673-683.
- Maiorano, G., Sobolewska, A., Cianciullo, D., Walasik, K., Elminowska, G., Wenda, A., Slawinska, S., Tavaniello, J., Zylinska, J., Bardowski, J., Bernarczyk, M. (2012). Influence of in ovo prebiotic and synbiotic administration on meat quality of broiler chickens. *Poult. Sci.*, 91: 2963-2969.
- Meijerhof, R. (2006). Chick size matters. *World's Poultry Science Journal*, 22: 30-31.
- Moosanezhad, M., Salahi, A., Mashayekhi, S. (2011). The best time for in ovo solution injection in old broiler breeder flock eggs. XIV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Leipzig, Germany.
- Moran, E.T. (2007). Nutrition of developing embryo and hatchling. *Poult Sci.* 86:1043-1049.
- Nitsan, Z., Dunnington, E.A., Siegel, P.B. (1991). Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. *Poultry Science*, 70: 2040-2048.

- Nowaczewski, S., Kontecka, H. (2005). Effect of dietary vitamin supplement on reproductive performance of aviary pheasants. *Czech J. Anim. Sci.* 50: 208-212.
- Nowaczewski, S., Kontecka, H., Krystianiak, S. (2012). Effect of in ovo injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. *Folia Biol.*, 60: 93-97.
- Noy, Y., Sklan, D., Uni, Z. (1996). Utilisation of yolk in the newly hatched chick. *British Poultry Science*, 37: 987-995.
- Noy, Y., Sklan, D. (2001). Yolk and exogenous feed utilization in the post hatch chick. *Poultry Science*, 80: 1490-1495.
- Noy, Y., Uni, Z. (2010). Early nutritional strategies. *World Poultry Sci J.*, 66: 639-646.
- Ohta, Y., Tsushima, N., Koide, K., Kidd, M.T., Ishibashi, T. (1999). Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poult. Sci.*, 78: 1493-1498.
- Ohta, Y., Kidd, M.T., Ishibashi, T. (2001). Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. *Poultry Science*, 80: 1430-1436.
- Ohta, Y., Kidd, M.T. (2001). Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs. *Poultry Science*, 80: 1425-1429.
- Palmer, B.D., Guilette, J.R. (1991). Oviductal Proteins and Their Influence on Embryonic development in Birds and Reptiles. Egg incubation Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles. (Ed: D. Charles Deeming, Mark W. J. Ferguson) Cambridge University Press, New York, pp. 29-46.
- Pardue, S.L., Thaxton, J.P. (1986). Ascorbic Acid in Poultry: A Review. *World's Poult. Sci.*, 42: 107-123.
- Peebles, E.D. (2018). In ovo applications in poultry: A review. *Poultry Science*, 97: 2322-2338.
- Pearce, J., Brown, W.O. (1971). Carbohydrate metabolism in physiology and biochemistry of the domestic fowl, D.J. Bell and B.M. Freeman (eds.). Academic Press, London, UK, 1: 295-319.
- Pedroso, A.A., Chaves, L.S., Lopes, K.L.A.M., Leandro, N.S.M., Café, M.B., Stringhini, J. H. (2006). Inoculação de nutrientes em ovos de matrizes pesadas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 2018-2026.
- Pesmen, G. (2023). The Effect of Vitamin C in ovo injection on incubation results of fertile goose eggs. *OKU Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1): 408-415.
- Pourdolati, O. (2014). Etlik Damızlık Yumurtalarda Vitamin E Ve Vitamin C İn-Ovo Enjeksiyonunun Çıkış Gücü Ve Etlik Piliç Performansı Üzerine Etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Reijrink, I., Molenaar R. (2006). Chick length & Organ development. Reijrink, I. ve Molenaar, R., 2006. Chick length & Organ development http://en.engormix.com/articles_view.aspx?AREA=AVG&id=155&pag=0. (Erişim tarihi: 25.02.2023).

- Retes, P.L., Clemente, A.H.S., Neves, D.G., Esposito, M., Makiyama, L., Alvarenga, R.R., Pereira, L.J., Zangeronimo, M.G. (2018). *In ovo* feeding of carbohydrates for broilers— a systematic review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 102-2: 361-369.
- Richards, M.P., Steele, N.C. (1987). Trace element metabolism in the developing avian embryo: a review. *Journal of Experimental Zoology*, 1: 39-51.
- Richards, M.P. (1997). Trace mineral metabolism in the avian embryo. *Poultry Science*, 76: 152-164.
- Ricks, C.A., Mendu, N., Phelps, P.V. (2003). The Embryonated Egg: A Practical Target for Genetic Based Advances to Improve Poultry Production. *Poultry Sci.* 82: 931- 938.
- Roto, S.M., Kwon, Y.M., Ricke, S.C. (2016). Applications of *in ovo* technique for the optimal development of the gastrointestinal tract and the potential influence on the establishment of its microbiome in poultry. *Frontiers in Veterinary Science*, 3: 63-75.
- Saeed, M., Babazadeh, D., Naveed, M., Alagawany, M., Abd El- Hack, M.E., Arain, M.A.(2019). *In ovo* delivery of various biological supplements, vaccines and drugs in poultry: current knowledge. *J Sci Food Agric*, 99(8): 3727-39.
- Salahi, A., Mozhdeh, M. and Seyed, N. M. (2011). Optimum time of *in ovo* injection in eggs of young broiler breeder flock." *Proceedings of the 18th Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Izmir, Turkey*. 31.
- Salmanzadeh, M., Ebrahimnezhad, Y., Shahryar, H.A., Lotfi, A. (2011).The effects of *in ovo* injection of L threonine in broiler breeder eggs on characters of hatching and growth performance broiler chickens. *European Journal of Experimental Biology*, 1: 164-168.
- Salmanzadeh, M. (2012). The effects of *in-ovo* injection of glucose on hatchability, hatching weight and subsequent performance of newly-hatched chicks, *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14(2): 71-158.
- Santos, E.T., Sgavioli, S., Castiblanco, D.M.C., Domingues, C.H.F., Quadros, T.C.O., Borges, L.L. (2018). Glycosaminoglycans and vitamin C *in ovo* feeding affects bone characteristics of chicks. *R. Bras. Zootec.*, 47: e20170304.
- Santos, T.T., Corzo, A., Kidd, M.T., McDaniel, C.D., Torres, Filho, R.A., Araujo, L.F. (2010). Influence of *in ovo* inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 19: 1-12
- Satterlee, D.G., Jones, R.B., Ryder, H. (1994). Effects of Ascorbyl-2-Polyphosphate on Adrenocortical Activation and Fear-Related Behavior in Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 73: 194-201.
- Seeman, M. (1991). Is vitamin C essential in poultry nutrition. *Misset World Poultry*, 7(8): 17-19.
- Selim, S.A., Gaafar, K.M., El-Ballal, S.S. (2012). Influence of *in ovo* administration with vitamin E and ascorbic acid on the performance of Muscovy ducks. *Emir. J. Food Agric.*, 24: 264-271.

- Sgavioli, S., Thimotheo, M., Praes, M.F., Silva, V.K., Alves, M.F.R., Boleli, I.C. (2013). Effect of ascorbic acid injected in pre-incubation egg on incubation and respiratory hematological parameters. *ARS veterinaria*, 29(2): 118-125.
- Sgavioli, S., Santos, E.T., Borges, L.L., Andrade-Garcia, G.M., Castiblanco, D.M.C., Almeida, V.R., Garcia, R.G., Shimano, A.C., Nääs, I.A., Baraldi-Artoni, S.M. (2017). Effect of the addition of glycosaminoglycans on bone and cartilaginous development of broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 96: 4017-4025.
- Sharma, J.M., Burmester, B.R. (1984). Disease Control in Avian Species by Embryonal Vaccination. U.S. Patent No. 4, 458-630.
- Siwicki, A.K., Fuller, J.C., Nissen, S., Ostaszewski, P., Studnicka, M. (2000). In vitro effects of betahydroxy- beta-methylbutyrate (HMB) on cellmediated immunity in fish. *Vet. Immunol. Immunopatho.*, 76: 191-197.
- Souza, F.M. (2008). Basic aspects of in-ovo injection commercial hatcheries. *Ceva Animal health Asia Pasific*. 20. <https://cdn.globalagmedia.com/poultry/legacy/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob2008/Article-No20-Sept08.pdf> (Erişim tarihi: 14.04.2023)
- Sözcü, A., Curabay, B. (2014). Kuluçkada Yumurta İçi (In Ovo) Besleme Uygulamaları *Hayvansal Üretim*, 55(1): 46-50.
- SPSS 13.00. Computer Software. SPSS Inc, Headquarters, 233s., Wacker Drive, Chicago, IL 60606, USA; 2004.
- Styver, L. (1995). Biochemistry. 4th Edition Stanford University. W. H. Freeman and Company New York pp. 483-509.
- Surai, P.F. (2000). Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing. *British Poultry Science*, 41(2).
- Şahin, K., Küçük, O. (2001). Effects of vitamin C and vitamin E on performance, digestion of nutrients and carcass characteristics of Japanese quails reared under chronic heat stress. *The Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 85: 335-341.
- Şeremet, Ç. (2012). Civciv Kalitesini Etkileyen Etmenler ve Değerlendirme Yöntemleri *Hayvansal Üretim*, 53(1): 38-43.
- Tahmasebi, S., Toghyani, M. (2016). Effect of arginine and threonine administered in ovo on digestive organ developments and subsequent growth performance of broiler chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 100: 947-956.
- Tako, E., Ferket, P.R., Uni, Z. (2004). Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta- methyl butyrate on the development of the chicken intestine. *Poultry Science*, 83(12): 2023-8.
- Tangara, M., Chen, W., Xu, J., Huang, F.R., Peng, J. (2010). Effects of in ovo feeding of carbohydrates and arginine on hatchability, body weight, energy metabolism and perinatal growth in duck embryos and neonates. *British Poultry Science*, 51(5): 602-608.

- Tona, K., Onagbesan, O., Jago, Y., Kamers, B., Decuypere, E., Bruggeman, V. (2004). Comparison of embryo physiological parameters during incubation, chick quality and growth performance of three lines of broiler breeders differing in genetic composition and growth rate. *Poultry Science*, 83: 507-513.
- Tullett, S.G. (1990). Science and The Art of Incubation. *Poult. Sci.* 69: 1-15.
- Uni, Z., Noy, Y., Sklan, D. (1999). Posthatch development of small intestinal function in the poultry. *Poult. Sci.*, 78: 215-222.
- Uni, Z., Ferket, P.R. (2003). Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding. US Patent 6,592,878. North Carolina State University, Raleigh, NC; and Yissum Research Development Company of the Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem (Israel). United States patent US 6,592,878.
- Uni, Z., Tako, E., Gal-Garber, O., Sklan, D. (2003). Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poult. Sci.*, 82: 1747-1754.
- Uni, Z., Ferket, R.P. (2004). Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science*, 60(1): 101-111.
- Uni, Z., Ferket, P.R., Tako, E., Kedar, O. (2005). In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science*, 84: 764-770.
- Uni, Z., Yahov, S. (2009). Managing prenatal development of broiler chickens to improve productivity and thermo tolerance. In: Greenwood P., Bell A., Vercoe P., Viljoen G. (eds) Managing the prenatal environment to enhance livestock productivity. Springer, Dordrecht.
- Uni, Z., Ferket, R.P. (2019). Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60(1): 101-111.
- Üçtepe, Y.A. (2016) Broylerlerde In Ovo Teknik ve Ticari Uygulamaları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1):157-168.
- Vieira, S.L. (2007). Chicken Embryo Utilization of Egg Micronutrients. *Braz. J. Poultry Sci.*, 9:1-8.
- Vieira, S.L., Moran, E.T. (1999). Effect of egg origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. *World's Poult. Sci. J.*, 56: 125-142.
- Wakenell, P.S., Bryan, T., Schaffer, J., Avakian, A., Williams, C., Whitfill, C. (2002). Effect of in-ovo vaccine delivery route on HVT/SB-1 efficacy and viremia. *Avian Disease*, 46: 274-280.
- Williams, C.J. (2008). *International Poultry Production*, 15(8):7-9. http://pfizerglobalpoultry.com/articles/Pfizer_15_8.pdf.
- Williams, C.J., Zedek A.S. (2010). Comparative Field Evaluations of In Ovo Applied Technology. *Poultry Sci.* 89: 189-193.

- Wilson, J.X., Jaworski, E.M. (1992). Effect of Oxygen on Ascorbic Acid Uptake and Concentration in Embryonic Chick Brain. *Neurochem. Res.*, 17: 571-576.
- Wolanski, N.J., Luiten, E.J., Meijerhof, R., Vereijken A.L.J. (2003). Yolk utilisation and chick length as parameters for embryo development. *Avian Poult. Biol. Rev.*, 15: 233-234.
- Wolanski, N.J., Luiten, E., Meijerhof, R., Vereijken, A.L. (2005). Yolk utilisation and chick length as parameters for embryo development. *Avian Poult Biol Rev.*, 15(3): 233-9.
- Yarsan, E., Güleç, M. (2003). Kanatlılarda stres, vitamin ve mineral uygulamaları. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 3(3-4): 55-63.
- Zakaria, A.H., Al-Anezi, M.A. (1996). Effect of ascorbic acid and cooling during egg incubation on hatchability, culling, mortality, and the body weights of broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 75(10): 1204-1209.
- Zakaria, A.H., Al-Latif, A.A. (1998). Effect of ascorbic acid treatment during egg incubation and after hatch on embryonic development, hatch time, and body weight changes of posthatch incubation time of broiler chickens. *Arch. Geflugelk*, 62: 176-182.
- Zakaria, A.H., AL-Latifa, A., AL-Anezi, M.A. (1998). Effect of ascorbic acid on embryonic development, hatch time and growth of extended delayed placement of broiler chickens. *Arch. Geflugelk*, 62: 11-15.
- Zangeronimo, M.G., Resende, C.O., Leao, A.P.A., Pereira, L.J., Geraldo, A., Pinto, J.T., Alvarenga, R.R. (2023). In ovo feeding of carbohydrates for broilers: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*. 299: 115610.
- Zhai, W., Rowe, D.E., Peebles, E.D. (2011). Effects of commercial in ovo injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. *Poultry Science*, 90: 1295-1301.
- Zhu, Y.F., Li, S.Z., Sun, Q.Z., Yang, X.J. (2018). Effect of in ovo feeding of vitamin C on antioxidation and immune function of broiler chickens. *Animal*, 1-7.
- Zuidhof, M.J., Schneider, B.L., Carney, V.L., Korver, D.R., Robinson, F.E. (2014). Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poult Sci.*, 93(12): 2970-82.