

# Yumurta içi prebiyotik inokulasyonunun kuluçka randımanı ve civciv çıkım ağırlığı üzerine etkisi

Ali ÇALIK\*

**Öz:** Bu çalışmada yumurta içerisine uygulanan inülin ve laktulozun broyler civcivlerin kuluçka randımanı ve çıkım ağırlıkları üzerine olan etkisi incelenmiştir. Toplamda 160 adet dömlü yumurta kuluçkaya yerleştirilmeden önce her biri 40 yumurtadan oluşan 4 gruba ayrılmıştır. Negatif kontrol (NK) grubuna herhangi bir enjeksiyon yapılmazken, pozitif kontrol (PK) grubuna % 0.9 NaCl, IN grubuna % 2 (wt/vol) oranında inülin ve LK grubuna ise % 2 (wt/vol) oranında laktuloz enjeksiyonu yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, birer prebiyotik olan inülin ve laktulozun yumurta içerisinde kullanılmasının broyler civcivlerin kuluçkadan çıkım performansı ve çıkım ağırlığı üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** İnülin, kuluçka randımanı, laktuloz, prebiyotik

## The effect of intra-amniotic prebiotic inoculation on hatchability rate and hatching weight

**Abstract:** This study evaluated the effect of intra-amniotic inulin and lactulose inoculation on broiler hatchability and hatching weight. Total of 160 embryonated eggs were divided into 4 groups of 40 eggs each. The first group was not injected and served as a negative control (NK). The next group was injected with 0.9% NaCl and served

as positive control (PK). Experimental groups were inoculated with 2% (wt/vol) inulin (IN) or 2% (wt/vol) lactulose (LK). According to the out results, intra-amniotic administration of inulin and lactulose, as a prebiotic, did not affect broiler hatchability and hatching weight.

**Keywords:** Hatchability rate, inulin, lactulose, prebiotic

## Giriş

Günümüzde uygulanmakta olan entansif broyler yetiştiriciliğinde, yumurtadan çıkan günlük civcivler, yetişkin kanatlılar ile temas etmeden, direkt olarak kuluçka ortamı ve kümesi ile karşılaşmaktadır. Bu durum ise çıkım öncesi steril olan sindirim sistemine arzu edilen yararlı bakterilerin yeterli oranda kolonize olmasını engellemektedir (9, 13). Bağırsaklara bakteri yerleşimi tamamlandıktan sonra arzu edilen türlerin kolonizasyonunun giderek güçleştiği bildirilmiştir (26). Bu nedenle erken zamanda oluşturulacak sağlıklı bir mikroflora, kanatlıların sonraki yaşamı açısından büyük önem taşımaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, erken zamanda oluşturulacak yararlı bir mikroorganizma popülasyonunun kanatlı performansı ve sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu kaydedilmiştir (7, 24).

\* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara.

Büyütme faktörü olarak antibiyotik kullanımının yasaklanması ile birlikte hayvan sağlığını ve performansını arttırmaya yönelik çok sayıda doğal yem katkı maddesi geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu grupta en yaygın olarak kullanılan yem katkı maddelerinin başında ise probiyotikler ve prebiyotikler gelmektedir. Prebiyotikler, canlının sağlığını olumlu yönde etkileyen ve sindirim sistemindeki yararlı bakterilerin üremesini ve/veya aktivitesini stimüle eden sindirilemeyen karbonhidrat fraksiyonları olarak tanımlanmaktadır (12). İnülin bitkisel kaynaklı gıdalarda doğal olarak bulunan, fruktoz ve glikoz moleküllerinden oluşmuş sindirilemeyen bir oligosakkarittir. Bir prebiyotik olan inülin, yapısındaki  $\beta$ -(2,1) bağlar nedeniyle sindirim sistemi enzimlerinden etkilenmez ve sindirim sisteminde yer alan yararlı bakterilerin üreme ve gelişmesini teşvik eder (1, 21, 22). Yapılan çalışmalarda yumurta içi inülin (25) ve mannanoligosakkarit (7) uygulamasının sindirim sistemi gelişimi üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir.

Laktuloz (-0- $\beta$ -D-galactopyranosyl-D-fructofuranose), galaktoz ve fruktoz moleküllerinin  $\beta$ -1,4 glikozidik bağlarla bağlanması sonucu meydana gelen sentetik bir disakkarittir (19). Sindirim enzimleri tarafından kullanılmayan laktuloz, sindirim sistemindeki yararlı bakteriler tarafından etkili bir şekilde kullanılabilir (3, 4, 15). Yapılan çalışmalarda rasyonlara ilave edilen laktulozun broyler performansı ve bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu sonucuna varılmıştır (6, 8). Ancak laktulozun yumurta içerisinde kullanımına ilişkin yeterli bilgi mevcut değildir.

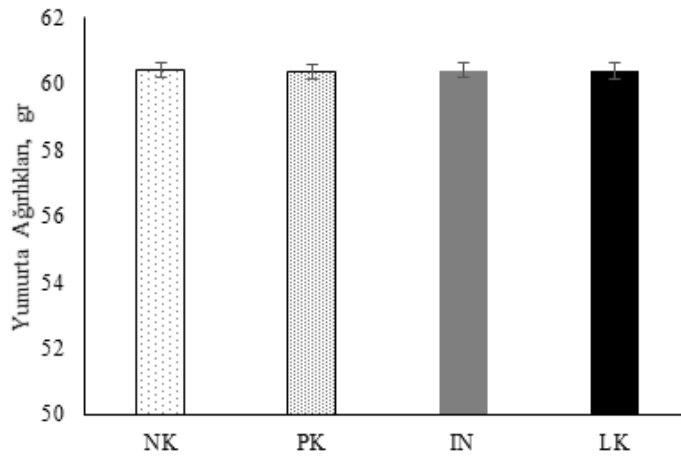
Antibiyotik kullanımının yasaklanması ile rasyonlarda alternatif katkı maddelerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak erken besleme ve yumurta içi besleme gibi yöntemlerin de broyler performansı ve sağlığı üzerine umut verici etkileri olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada erken zamanda koruyucu bir mikroflora oluşturmak amacı ile yumurta içerisine uygulanan inülin ve laktulozun broyler civcivlerin çıkım gücü ve çıkım ağırlıkları üzerine olan etkisi incelenmiştir.

### Gereç ve Yöntem

**İnkübasyon prosedürü ve yumurta içi enjeksiyon:** Ticari bir kuluçkahanedeki 32 haftalık broyler sürüsünden temin edilen dömlü yumurtalar (Ross 308) kuluçkaya yerleştirilmeden önce  $\pm$  10 mg'a duyarlı terazi ile tartılmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir. Kuluçkaya yerleştirilmesi uygun olmayan yumurtalar ayırdıktan sonra, ağırlıkları  $60.39 \pm 1.37$  olarak belirlenen 160 adet dömlü yumurta ise araştırmada kullanılmak üzere ayrılmıştır (Şekil 1). Yumurtalar uygun bir ortamda formalin fumigasyonu ile dezenfekte edildikten sonra yeterince havalandırılmıştır. Dömlü yumurtalar kuluçkaya yerleştirilmeden önce her biri 40 yumurtadan oluşan 4 gruba ayrılmıştır. Negatif kontrol (NK) grubuna herhangi bir enjeksiyon yapılmazken, pozitif kontrol (PK) grubuna % 0.9 NaCl, IN grubuna % 2 (wt/vol) oranında inülin (Orafti IPS, Beneo, Oreye, Belçika) ve LK grubuna ise % 2 (wt/vol) oranında laktuloz (Duphalac, Abbott Biologicals B.V. Olst, Hollanda) enjeksiyonu yapılmıştır. Kuluçkanın her bir katına her bir gruba ait yumurtalar eşit sayıda olacak şekilde homojen yerleştirilmiştir. Yumurtalar standart koşullar altında inkube edilmiştir.

İnkubasyon periyodunun 17. gününde (E17) karanlık bir odada lamba kontrolü altında dölsüz yumurtalar ile erken embriyonik ölümlerin gerçekleştiği yumurtalar ayrılmıştır. Döllü yumurtalarda embriyonun ve amniyonun yeri belirlendikten sonra hazırlanan solüsyonların enjeksiyonu için hava kesesinin bulunduğu taraf %75'lik etanol yardımı ile dezenfekte edilmiştir. Taze olarak hazırlanan solüsyonlar yumurta içi besleme prosedürüne uygun olarak (24) 21G

iğneli steril otomatik enjektör (Socorex, Ecublens, İsviçre) yardımı ile yumurtanın hava kesesi boşluğu tarafından amniyon sıvısına enjekte edilmiştir (0.6 mL/yumurta). Enjeksiyon yapılmayan yumurtalar dahil tüm yumurtalar inkubatör dışında eşit sürede bekletilmiştir. Hava kesesi tarafında kabukta açılan delik kapatıldıktan sonra, yumurtalar çıkım sepetlerine, kuluçka tepsilerinde olduğu gibi gruplandırılarak yerleştirilmiştir.



**Şekil 1:** Yumurtaların ağırlıkları

**Figure 1:** Eggs weight

**İstatistik analizler:** Elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri yapılmıştır. Önemlilik testlerine geçilmeden önce elde edilen değişkenler, parametrik test varsayımlarından normallik varsayımı için Shapiro Wilk testi ile varyansların homojenliği varsayımı için ise Levene testi ile kontrol edilmiştir. Yumurta ve çıkım ağırlıkları yönünden gruplar arası farklılığın önemliliğine tek yönlü varyans (ANOVA) analizi ile değerlendirilmiştir. Çıkım gücü yönünden gruplar arasındaki farklılığın anlamlılığı ise ki kare testi ile incelenmiştir. Tüm istatistik analizler minimum % 5 hata payı ile değerlendirilmiştir. İstatistik

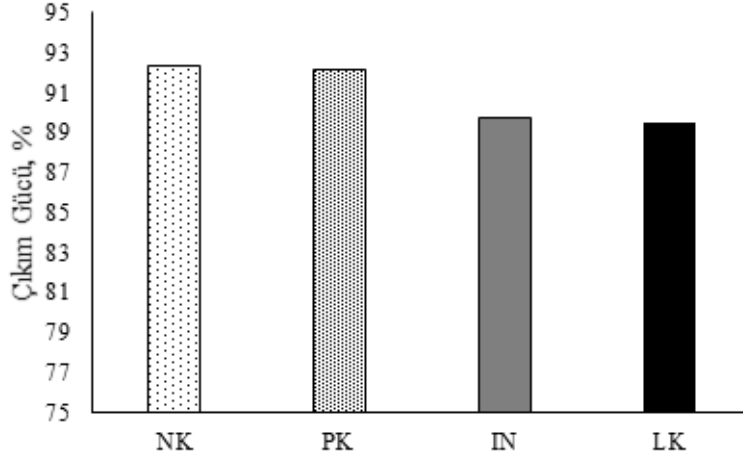
analizler için SPSS 14.01 paket programından yararlanılmıştır.

### Bulgular

Yumurta içi inülin ve laktuloz enjeksiyonunun çıkım gücü üzerine olan etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. En yüksek çıkım gücü %92.31 ile NK grubunda gözlenirken bunu sırasıyla PK (%92.11), IN (%89.74) ve LK (%89.50) grupları takip etmiştir. Gruplar arasında çıkım gücü açısından istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir (P=0.957). Yumurta içi inülin ve laktuloz enjeksiyonunun çıkım ağırlığı üzerine olan etkisi Şekil 3'de gösterilmiştir. En yüksek çıkım ağırlığının

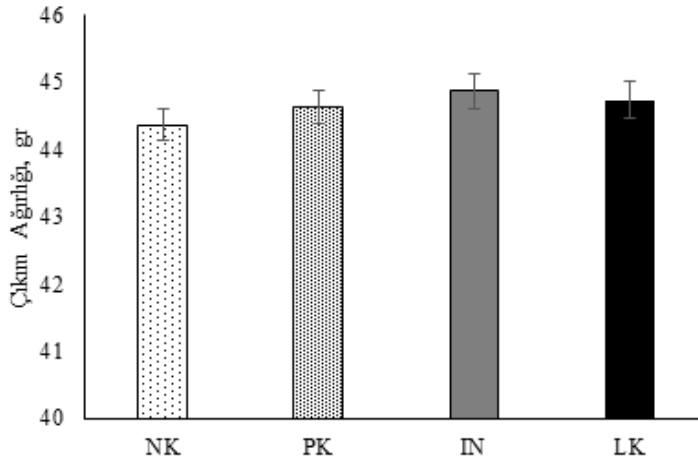
44.87 gr ile inülin enjekte edilen grupta (IN) olduğu görülmüş, bunu ise sırası ile LK (44.74 gr), PK (44.63 gr) ve NK (44.37 gr) grupları takip

etmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde çıkım ağırlığı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ( $P= 0.535$ ).



**Şekil 2:** Yumurta içi inülin ve laktuloz uygulamasının broyler çıkım gücü üzerine etkisi

**Figure 2:** Effect of intra-amniotic administration of inulin and lactulose on broiler hatchability



**Şekil 3:** Yumurta içi inülin ve laktuloz uygulamasının broyler çıkım ağırlığı üzerine etkisi

**Figure 3:** Effect of intra-amniotic administration of inulin and lactulose on broiler hatching weight

### Tartışma ve Sonuç

Broyler sindirim sistemi ve özellikle de sekum çok sayıda bakteriye ev sahipliği yapmaktadır. Yemlerde antibiyotik kullanımının yasaklanmasından sonra bu mikroflorada yer alan bakterilerin dağılımı ve yoğunlukları kanatlı besleme ve sağlığı açısından büyük bir önem kazanmıştır (16). Bunun yanı sıra yararlı bakterilerin çıkım sonrası hızlı bir

şekilde kolonize olması ile kanatlıların ilerleyen yaşlardaki performansının ve bağırsak sağlığının önemli derecede iyileştiği bildirilmektedir (5, 10, 14). Yapılan çalışmalarda rasyonlara ilave edilen inülin (21) ve laktulozun (6, 8) kanatlı sindirim sistemindeki yararlı bakterileri arttırdığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada ise çıkım sonrası sindirim sisteminde yer alan bakterilerin

kolonizasyonunu sağlamak amacı ile yumurta içerisine verilen inülin ve laktulozun broyler civcivlerin çıkım gücü ve çıkım ağırlıkları üzerine olan etkisi incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde birer prebiyotik olan inülin ve laktulozun yumurta içerisinde kullanılmasının broyler civcivlerin kuluçkandan çıkım performansı ve çıkım ağırlığı üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda inülin (17, 25), mannanoligosakkarit (7), rafinoz (2) gibi prebiyotiklerin in ovo enjeksiyon prosedürüne uygun olarak güvenli bir şekilde dömlü broyler yumurtalarında kullanılabileceği gösterilmiştir. Tako ve Glahn (25) yumurta içerisine verilen % 4 oranındaki inülinin broyler çıkım gücü ve çıkım ağırlığı üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde %0.1 mannanoligosakkarit enjekte edilen grup ile enjeksiyon yapılmayan grup arasında çıkım gücü ve çıkım ağırlığı açısından farklılık gözlenmemiştir. Araştırma sonuçlarının, daha önce yapılan çalışmalar ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Ayrıca çeşitli prebiyotiklerin, probiyotik bakteriler ile birlikte yumurta içerisine kullanılabileceği de bildirilmiştir (5, 17, 18, 20). Ancak laktulozun yumurta içerisine prebiyotik olarak kullanımına ilişkin daha önce yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda belirtildiği üzere yumurta içi prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik gibi ajanların kanatlı sağlığı ve performansı üzerine olumlu etkileri olabileceği (5, 9, 20, 23) ancak çalışmaların ticari standartlarda daha fazla sayıda yumurta ile tekrar edilmesi ve ayrıca tespit edilen bu olumlu etkilerinin

deneysel enfeksiyon şartlarından incelenmesi gerekmektedir.

Yumurtadan çıkımı takip eden ilk haftalarda sindirim sistemindeki mikroorganizma kolonizasyonu yetersiz olduğu için erken yaştaki broylerler patojen bakterilerin kolonizasyonuna daha duyarlıdır (11). Bu nedenle erken yaşta arzu edilen bakterilerin çoğalmasının sağlanması kanatlıların gelecekteki performansını ve sağlığı olumlu yönde etkileyebilir. Sonuç olarak, yararlı bakterilerin üremesini teşvik eden inülin ve laktulozun embriyol gelişimin 17. gününde yumurta içerisine uygulanmasının herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

#### Teşekkür

Yazar bu projeye destek sağlayan Beypiliç A.Ş. ve Artisan Gıda A.Ş.'ye, ayrıca değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet Ergün'e ve Prof. Dr. Pınar Saçaklı'ya teşekkür eder.

#### Kaynaklar

- Alzueta C, Rodriguez ML, Ortiz LT, Rebole A, Trevino J** (2010): *Effects of inulin on growth performance, nutrient digestibility and metabolisable energy in broiler chickens*. Br Poult Sci, **51**, 393-398.
- Berrocso JD, Kida R, Singh AK, Kim YS, Jha R** (2017): *Effect of in ovo injection of raffinose on growth performance and gut health parameters of broiler chicken*. Poult Sci, **96**, 1573-1580.
- Bouhnik Y, Attar A, Joly FA, Riottot M, Dyard F, Flourie B** (2004): *Lactulose ingestion increases faecal bifidobacterial counts: a randomised double-blind study in healthy humans*. Eur J Clin Nutr, **58**, 462-466.
- Bovee-Oudenhoven IM, Termont DS, Heidt PJ, Van der Meer R** (1997): *Increasing*

- the intestinal resistance of rats to the invasive pathogen Salmonella enteritidis: additive effects of dietary lactulose and calcium.* Gut, **40**, 497-504.
- 5. Calik A, Ceylan A, Ekim B, Adabi SG, Dilber F, Bayraktaroglu AG, Tekinay T, Ozen D, Sacakli P** (2017): *The effect of intra-amniotic and posthatch dietary synbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens.* Poult Sci, **96**, 169-183.
- 6. Calik A, Ergun A** (2015): *Effect of lactulose supplementation on growth performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens.* Poult Sci, **94**, 2173-2182.
- 7. Cheled-Shoval SL, Amit-Romach E, Barbakov M, Uni Z** (2011): *The effect of in ovo administration of mannan oligosaccharide on small intestine development during the pre- and posthatch periods in chickens.* Poult Sci, **90**, 2301-2310.
- 8. Cho JH, Kim IH** (2014): *Effects of lactulose supplementation on performance, blood profiles, excreta microbial shedding of Lactobacillus and Escherichia coli, relative organ weight and excreta noxious gas contents in broilers.* J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), **98**, 424-430.
- 9. de Oliveira JE, van der Hoeven-Hangoor E, van de Linde IB, Montijn RC, van der Vossen JM** (2014): *In ovo inoculation of chicken embryos with probiotic bacteria and its effect on posthatch Salmonella susceptibility.* Poult Sci, **93**, 818-829.
- 10. Flint JF, Garner MR** (2009): *Feeding beneficial bacteria: A natural solution for increasing efficiency and decreasing pathogens in animal agriculture.* J Appl Poult Res, **18**, 367-378.
- 11. Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B** (2010): *Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production.* Int J Food Microbiol, **141**, 15-28.
- 12. Gibson GR, Roberfroid MB** (1995): *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.* J Nutr, **125**, 1401-1412.
- 13. Gong J, Yu H, Liu T, Gill JJ, Chambers JR, Wheatcroft R, Sabour PM** (2008): *Effects of zinc bacitracin, bird age and access to range on bacterial microbiota in the ileum and caeca of broiler chickens.* J Appl Microbiol, **104**, 1372-1382.
- 14. Higgins SE, Higgins JP, Wolfenden AD, Henderson SN, Torres-Rodriguez A, Tellez G, Hargis B** (2008): *Evaluation of a Lactobacillus-based probiotic culture for the reduction of Salmonella enteritidis in neonatal broiler chicks.* Poult Sci, **87**, 27-31.
- 15. Krueger M, Schroedl W, Isik W, Lange W, Hagemann L** (2002): *Effects of lactulose on the intestinal microflora of periparturient sows and their piglets.* Eur J Clin Nutr, **41**, 26-31.
- 16. Lan Y, Verstegen MWA, Tamminga S, Williams BA** (2013): *The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens.* World Poult Sci J, **61**, 95-104.
- 17. Madej JP, Stefaniak T, Bednarczyk M** (2015): *Effect of in ovo-delivered prebiotics and synbiotics on lymphoid-organs' morphology in chickens.* Poult Sci, **94**, 1209-1219.
- 18. Maiorano G, Sobolewska A, Cianciullo D, Walasik K, Elminowska-Wenda G, Slawinska**

- A, Tavaniello S, Zylinska J, Bardowski J, Bednarczyk M** (2012): *Influence of in ovo prebiotic and synbiotic administration on meat quality of broiler chickens*. Poult Sci, **91**, 2963-2969.
- 19. Panesar PS, Kumari S** (2011): *Lactulose: production, purification and potential applications*. Biotechnol Adv, **29**, 940-948.
- 20. Pruszyńska-Oszmalek E, Kolodziejcki PA, Stadnicka K, Sassek M, Chalupka D, Kuston B, Nogowski L, Mackowiak P, Maiorano G, Jankowski J, Bednarczyk M** (2015): *In ovo injection of prebiotics and synbiotics affects the digestive potency of the pancreas in growing chickens*. Poult Sci, **94**, 1909-1916.
- 21. Rebole A, Ortiz LT, Rodriguez ML, Alzueta C, Trevino J, Velasco S** (2010): *Effects of inulin and enzyme complex, individually or in combination, on growth performance, intestinal microflora, cecal fermentation characteristics, and jejunal histomorphology in broiler chickens fed a wheat- and barley-based diet*. Poult Sci, **89**, 276-286.
- 22. Rehman H, Hellweg P, Taras D, Zentek J** (2008): *Effects of dietary inulin on the intestinal short chain fatty acids and microbial ecology in broiler chickens as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis*. Poult Sci, **87**, 783-789.
- 23. Sobolewska A, Bogucka J, Dankowiakowska A, Elminowska-Wenda G, Stadnicka K, Bednarczyk M** (2017): *The impact of synbiotic administration through in ovo technology on the microstructure of a broiler chicken small intestine tissue on the 1 st and 42 nd day of rearing*. J Anim Sci Biotechnol, **8**, 61-68.
- 24. Tako E, Ferket PR, Uni Z** (2004): *Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine*. Poult Sci, **83**, 2023-2028.
- 25. Tako E, Glahn RP** (2012): *Intra-amniotic administration and dietary inulin affect the iron status and intestinal functionality of iron-deficient broiler chickens*. Poult Sci, **91**, 1361-1370.
- 26. Verdonk JM, Shim SB, van Leeuwen P, Verstegen MW** (2005): *Application of inulin-type fructans in animal feed and pet food*. Br J Nutr, **93**, 125-138.
- 
- Geliş Tarihi: 25.08.2017 / Kabul Tarihi: 23.10.2017
- Sorumlu Yazar:**  
Dr. Ali ÇALIK  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
Anabilim Dalı  
Dışkapı, Ankara  
e-posta: calik@ankara.edu.tr