



Kanatlılarda İn Ovo Beslemenin Etkileri

Pınar TATLI SEVEN^{1, a}
Numan Yusuf AKTAŞ^{1, b}
Seda İFLAZOĞLU MUTLU^{1, c}
Miray Sıla ÇİÇEK^{1, d}
İsmail SEVEN^{2, e}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Sivrice Meslek Yüksekokulu,
Bitkisel ve Hayvansal Üretim
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-0067-4190

^b ORCID: 0009-0004-4022-8621

^c ORCID: 0000-0002-6835-2171

^d ORCID: 0009-0003-9533-2875

^e ORCID: 0000-0001-9489-8074

Geliş Tarihi : 02.09.2024
Kabul Tarihi : 17.12.2024

Yazışma Adresi

Pınar TATLI SEVEN
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

ptatli@firat.edu.tr

İn ovo tekniği, embriyonun gelişimi sırasında yumurta içine besin maddeleri enjeksiyonu yapılan bir yöntemdir. Bu yöntem, özellikle kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde; embriyonun besin ihtiyaçlarının karşılanması, gelişiminin iyileştirilmesi, yumurtadan çıktıktan sonra daha sağlıklı ve güçlü bireyler elde edilmesi amaçlarıyla geliştirilmiştir. İn ovo beslemede karbonhidratlar, yağlar, aminoasitler, mineraller, vitaminler ve diğer katkı maddeleri kullanılmaktadır. İn ovo beslemede yumurtaya 5 farklı bölgeden uygulama yapılmaktadır. Bu bölgeler hava kesesi, allantoik kese, amniyotik sıvı, embriyo gövdesi ve yumurta sarısı kesesidir. Yapılan çalışmalarda, in ovo enjeksiyonda embriyo yaşının kuluçka randımanı gibi birçok parametre üzerinde etkisinin olduğu bildirilmiştir. Enjeksiyon zamanı enjeksiyon yapılan bölgeye göre değişmekle beraber genel olarak embriyonun yumurtadan çıkış döneminde uygulanmaktadır. Embriyonal dönemde ihtiyaçlar göz önüne alınarak yapılan çalışma sonuçları değerlendirildiğinde in ovo beslemenin hayvanların kuluçka sonrası parametrelerini iyileştirdiği bildirilmiştir. Aynı zamanda in ovo besleme uygulaması, civcivlerin embriyonal dönemde bağırsak gelişimini ve bağışıklık sistemini güçlendirir. Bu sayede civcivler yumurtadan çıktıklarında daha fazla besin maddesi depolamış olurlar. Ancak, in ovo karbonhidrat beslemesinin, embriyonun enerji ihtiyacını karşılamada ve kuluçka parametreleri üzerine iyileştirici etkilerinin görülmesinde tam olarak pozitif bir etkinin ortaya koyulmadığı bildirilmiştir. İn ovo amino asit beslemesinin; embriyonik gelişim sürecinde bağırsağın emilim kapasitesini yükselttiği ve bunun sonucunda kuluçka ağırlığını artırdığı sonucuna varılmıştır. İn ovo yağ beslemesinin; büyüme, gelişme ve bağışıklık sistemi üzerine etkileri henüz belirgin değildir. İn ovo vitamin beslemesinin ise embriyo gelişiminde metabolizma sonucu veya sıcak stresine maruz kalındığında ortaya çıkan oksidatif hasara karşı embriyoyu koruduğu ayrıca kuluçka parametrelerini iyileştirdiği sonucuna varılmıştır. Genel olarak in ovo besleme uygulamalarının kuluçka parametreleri ile özellikle etlik piliç besleme parametrelerini iyileştirici etkileri olduğu ancak bu konuda daha fazla yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İn ovo, besleme, kanatlı, katkı maddeleri, kuluçka parametreleri, performans

Effects of In Ovo Feeding on Poultry

The in ovo technique is a method where nutrients are injected into the egg during embryonic development. This method has been developed especially in poultry farming in order to meet the nutritional needs of the embryo, to improve its development and to obtain healthier and stronger birds after hatching. In in ovo feeding, carbohydrates, fats, amino acids, minerals, vitamins, and other additives are used. The injection is performed in five egg regions: the air cell, allantoic sac, amniotic fluid, embryo body, and yolk sac. Studies have reported that in ovo injection affects various parameters, such as the embryo's age and hatchability. The timing of the injection varies depending on the region being injected, but it is generally performed during the embryo's hatching period. Evaluating the results of studies conducted considering the needs during the embryonic period, in ovo feeding has been reported to improve post-hatch parameters in animals. Additionally, the in ovo feeding application strengthens the chicks' intestinal development and immune system during the embryonic period, allowing them to store more nutrients when they hatch. However, it has been reported that in ovo carbohydrate feeding does not show an entirely positive effect on meeting the energy needs of the embryo and improving hatchability parameters. In ovo, amino acid feeding has been found to increase the absorption capacity of the intestine during the embryonic development process, increasing hatch weight. The effects of in ovo fat feeding on growth, development, and immunity are unclear. In ovo, vitamin feeding has been found to protect the embryo against oxidative damage that occurs as a result of metabolism or when exposed to heat stress during embryo development, as well as improve hatchability parameters. In general, it is seen that in ovo feeding practices have improving effects on hatchery parameters and especially broiler feeding parameters, but more studies are needed in this regard.

Key Words: In ovo, feeding, poultry, additives, hatching parameters, performance

1. Giriş

Dünya genelinde hızla artan nüfus göz önünde bulundurulduğunda, gıdaya olan ihtiyacın da önümüzdeki yıllarda hızla artacağı öngörülmektedir. Bu nedenle, tüketime hızla dahil olacak hayvansal gıdaların üretimi önemlidir. Hayvansal proteinlere olan talep giderek artarken, bu talebin karşılanmasında kanatlı endüstrisinin öne çıkacağı düşünülmektedir. Kanatlı eti üretimi tüm dünyada yıldan yıla artış göstermektedir. Bunun

nedenleri arasında; düşük üretim maliyetleri ve yüksek verimli bir protein kaynağı olması ve kolay üretim ve düşük arazi ihtiyacı gibi faktörler önemli rol oynamaktadır (1). Yaygın üretim potansiyeli ve çevresel açıdan sürdürülebilir bir ürün olması nedeniyle, kümes hayvanlarına olan talebin artarak devam etmesi beklenmektedir.

Kanatlı hayvan üretimini önemli ölçüde etkileyen kritik faktörler arasında civciv çıkış oranı, çıkış ağırlığı ve çıkış sonrası performansı yer almaktadır. Kuluçka çıkış işlemi başladığında civcivler yumurtadan genellikle 36-48 saatte çıkışı tamamlar ve çıkış oranı %95'e ulaştığında kuluçka işlemi tamamlanır. Ancak, sağlık kontrolleri, cinsiyet ayrımı ve kümeslere nakil gibi işlemlerle birlikte civcivlerin 48-72 saat boyunca yem ve su ihtiyaçlarını karşılamakta zorlanacağı düşünülmektedir. Bu süre zarfında yem ve su alamayan etlik piliçler, besi başlangıç, gelişim ve besi sonu ağırlıkları konusunda aynı genetiğe sahip olan ancak ihtiyaçlarını karşılayabilen piliçlere göre geride kalmaktadır (2). Bu durum, hayvanların verimlerini önemli ölçüde etkileyebileceği için, konuyla ilgili araştırmaların artması ve kanatlılarda erken dönem besleme uygulamalarının geliştirilmesi önem arz etmektedir (3, 4). Nitekim kuluçka dönemi; embriyonik büyümeyi, kuluçkadan çıkışı, civcivlerin bağışıklık sistemini ve kuluçka sonrası performansı etkilediği için embriyoların kuluçka öncesi beslenmesinde in ovo teknolojisi, kümes hayvanı üretiminde önemli bir rol üstlenmektedir (5).

2. İn Ovo Besleme Tekniği

İn ovo tekniği ilk kez 1970'li yılların sonunda kullanılmasına karşın kanatlı sektörde bu teknik Embrex® (biyoteknoloji şirketi) tarafından patenti alınmış ve ticari amaçla ilk kullanımı 1991 yılında gerçekleşmiştir. Embrex® ilerleyen yıllarda yumurtaya enjeksiyonu otomatik olarak yapan INOVOJECT® sistemini tasarlamıştır. Gelişmiş ülkelerde in ovo teknik ile aşılama uygulaması etlik piliçlerin yaklaşık %95'inde kullanılmaktadır. İn ovo aşı uygulamasındaki başarıdan dolayı kanatlı hayvanların yumurtalarına hormonlar, besin takviyeleri ve bağışıklık uyarıcılar gibi çeşitli biyolojik maddelerin enjeksiyonu son zamanlarda önem kazanmış ve bu alanda farklı çalışmalar yapılmıştır (6). Yumurtalar, sert bir kabukla çevrili olduklarından dış çevreden besin alamaz ve çevreye atık madde bırakamazlar. Bu nedenle, embriyo gelişimi için gerekli enerji kaynakları, yumurtanın oluşum aşamasında içerisinde olması gerekmektedir (7). İn ovo besleme tekniği, kuluçka döneminde veya kuluçkadan hemen önceki dönemde kanatlı yumurtalarına çeşitli besin maddeleri ve sıvı solüsyonların enjeksiyonu esasına dayanan biyoteknolojik bir uygulamadır. Uygulama yapılacak yumurtalar, enjeksiyon gününe kadar kuluçkada 37.8°C sıcaklık ve %55 bağıl nemde tutulmaktadır. Uygulama günü, yumurtaların dezenfeksiyonu yapılır ve 37°C'ye ısıtılmış enjeksiyon solüsyonu steril koşullarda uygun görülen bölgeye enjekte edilir. Enjeksiyon bölgesi boncuk parafin ile kapatılıp yumurtalar 37.2°C sıcaklık ve %65 bağıl nemde çıkım sepetine yerleştirilir (8). Bu uygulama, çıkış

gücünün artması, civcivlerin çıkış öncesinde aşılınması, bağırsak gelişiminin teşvik edilmesi, iskelet sistemi ve bağışıklık sistemi gelişiminin desteklenmesi, anormal kemik büyümesinin önlenmesi, kuluçka sonrası canlı ağırlığın ve yemden yararlanmanın iyileştirilmesi, ilk hafta civciv ölümlerinin azaltılması, kas gelişiminin teşvik edilmesi (özellikle göğüs kasları) gibi çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır (9). İn ovo enjeksiyon uygulamasını etkileyen en önemli faktörler enjeksiyonun zamanı ve uygulama bölgesi seçimidir.

2.1. İn Ovo Enjeksiyon Zamanı: Tavuklarda embriyonal dönem; 1-7. gün gelişimin başlangıcı, 8-14. gün embriyo tamamlama ve 15-21. gün çıkış için hazırlık evrelerinden meydana gelmektedir. Beslenme ihtiyaçları her evrede farklılık göstermektedir (6). Bu sebeple enjeksiyonun yapılacağı zaman, enjekte edilecek maddeler için önemlidir (10). Yapılan in ovo besleme çalışmaları incelendiğinde; embriyonal gelişimin başlangıcında (1 ve 7. gün) (11, 12), embriyo tamamlama döneminde (8 ve 14. gün) (13, 14) ve yumurtadan çıkışa hazırlık döneminde (15 ve 21. gün) (15, 16) in ovo enjeksiyon işlemlerinin uygulandığı bildirilmiştir. Ancak tavuk yumurtaları üzerinde yapılan bazı in ovo çalışmalarında (17-20), besin madde enjeksiyonu için en uygun zamanın kuluçkanın 17 ile 18. günleri arasında olduğu sonucuna varılmıştır. Nitekim yapılan bir çalışmada (21), in ovo enjeksiyon uygulamasında embriyo yaşının kuluçka randımanı üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir. En yüksek kuluçka veriminin, damızlık yaşından bağımsız olarak kuluçkanın 18.5. gününde yapılan in ovo enjeksiyon ile elde edildiği tespit edilmiştir. Kuluçka sürecinin 17. gününden itibaren yumurta sarısı civciv tarafından karın bölgesine çekilmeye başladığından, in ovo enjeksiyon işlemi hava kesesi ve amniyotik kese gibi yumurtanın farklı bir bölgesine uygulanabilmektedir (22). Embriyo gelişiminin son döneminde, embriyo amniyon sıvısını ağız yoluyla tüketir ve bağırsaklar işlevsel olarak faaliyete geçer. Bununla birlikte kas ve karaciğerde glikojen depolanır, yumurta sarısı kesesi karın içine çekilir. Yumurta sarısı içindeki besinler sarı kesesi aracılığıyla embriyonik dolaşıma geçerek çıkış sonrası suya ve yeme erişene kadar civcivin ihtiyaçlarını karşılamaktadır (6, 18).

Etlik piliçlerde iki farklı in ovo enjeksiyon uygulama zamanının (18. gün, 440 saat ve 19. gün, 460 saat) ortalama ağırlığı etkilemediği, fakat canlı ağırlık artışını arttırdığı ve en yüksek artışın 19. gününde aşılanan yumurtalardan çıkan civcivlerde olduğu ve canlı ağırlıktaki bu artışın daha fazla besin alımından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (23).

Hindi civciv embriyosunda önemli organların organogenezi, 28 gün süren kuluçkanın genellikle ilk haftasında gerçekleşir. Özellikle, sindirim sistemi 4-7. günler arasında oluşurken, yumurtalık, ileum, femur, pankreas, gastrocnemius kası ve duodenum gibi diğer hayati organlar 9. günde gelişimini tamamlar. Bu kritik dönemde (örneğin, 7. gün) enerji açısından zengin besinlerin in ovo yöntemiyle verilmesinin, organların optimal büyüme ve gelişimini teşvik edebilecek etkili bir yöntem olduğu belirtilmektedir (24). Bildiricilerin kuluçka süresi yumurtanın büyüklüğü ve depolanma süresine

bağlı olarak değişmekle beraber 16-17 gündür (25). Bildiricilerde in ovo besleme için en uygun uygulama zamanı embriyo gelişim aşamalarına ve kullanılan biyolojik maddelerin amacına göre değişiklik göstermekle birlikte, genellikle embriyonik gelişimin sonuna doğru (14. gün) yapıldığı görülmektedir (26-28). Kuluçka süresi türleri arasında değişmekle birlikte 28-34 gün süren (29) kaz embriyolarında, in ovo besleme için en uygun uygulama zamanının genellikle kuluçkanın 24-26. günlerinde olduğu tespit edilmiştir (30-32). Kuluçkanın bu günleri, embriyonun metabolik ihtiyaçlarının arttığı ve bağırsak gelişiminin hızlandığı kritik bir süreci kapsamaktadır. Bu süreçte in ovo besleme uygulamasının, embriyonun enerji rezervlerini desteklediği ve bağırsak villuslarının gelişimini artırarak sindirim kapasitesini iyileştirdiği bildirilmiştir (30). Örneklerin ise 28 gün süren (29) kuluçkanın, 20-25. günleri arasında farklı besin maddeleriyle yapılan in ovo uygulamaları, embriyo gelişimi ve kuluçka sonrası performansı önemli oranda iyileştirmiştir (33-35).

2.2. İn Ovo Enjeksiyon Bölgeleri: Embriyonun yaşamını devam ettirebilmesi için atık ve besin maddelerinin kuluçka süreci boyunca birbirinden ayrılması çok önemli bir role sahiptir. Bu sebepten dolayı in ovo uygulanan maddenin maksimum etkinliğini göstermesi için doğru bir bölgeye uygulanması gerekmektedir (36, 37). İn ovo beslemede hava kesesi, allantoik kese, amniyotik sıvı, embriyo gövdesi ve yumurta sarısı kesesi olmak üzere toplam 5 farklı bölgeden uygulama yapılabilmektedir (7). İn ovo beslemede %94.4 başarı oranıyla en etkili olan yöntem amniyotik sıvı olurken, ikinci sırada %93.9 başarı oranıyla embriyo gövdesi gelmektedir. Amniyon sıvı içerisine yapılan in ovo enjeksiyon uygulamasının en yüksek başarı oranına sahip olması, embriyonun bu içeriği solumak ya da yutmak zorunda kalmasından kaynaklanmaktadır. Allantoik kese ve hava kesesine yapılan in ovo enjeksiyonlarda ise başarı oranı %50'nin altına düşmektedir (37). Ancak bu konuda farklı görüşlerde bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada (4), sarı kesenin en başarılı enjeksiyon bölgesi olduğu belirtilirken, başka bir çalışmada ise (38) en başarılı enjeksiyon bölgesinin amniyotik sıvı olduğu bildirilmiştir. Bu göreceli yaklaşımların nedeni uygulama bölgesindeki başarı oranının uygulama zamanına göre farklılık göstermesinden de kaynaklanmaktadır. Nitekim amniyotik keseye uygulanan enjeksiyonun kuluçka öncesi ve embriyonik gelişimin başlangıcında daha başarılı olduğu, sarı keseye uygulanan enjeksiyonun ise embriyonik gelişimin ardından gelen aşamalarda daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Ayrıca sarı kesenin gerek yüzey alanı gerekse de besin maddelerinin sindirim oranının yüksek olmasından dolayı da daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (39).

3. Kanatlılarda İn Ovo Kullanılan Besin Maddeleri

3.1. Kanatlılarda İn Ovo Karbonhidrat Kullanımı: Yumurtanın karbonhidrat içeriği, embriyonun metabolik ve fizyolojik ihtiyaçlarını karşılamak için yetersizdir (40). Nitekim embriyonik gelişim sırasında, civciv embriyosu tarafından kullanılan enerjinin, yumurta sarısında

bulunan lipitlerden ve albüminde bulunan proteinlerden geldiği bilinmektedir (41). Özellikle kuluçkanın son aşamasında, çıkış için kabuk gaganacağından embriyonun enerji talebi artmaktadır. Buna bağlı olarak metabolik hızın yükselmesi nedeniyle mevcut oksijen miktarı azalmakta (17) ve dolayısıyla embriyoların anaerobik glikoz metabolizmasına bağımlılığı artmaktadır (42). Civcivler, yumurtadan çıktıktan saatler sonra hayatta kalmak için karaciğerlerinde amino asitler gibi bileşikler kullanarak glukoneogenez gerçekleştirirler. Bu süreç, civcivlerin kan şekerini koruması ve embriyonik glikojen rezervlerini artırması için önemlidir (43, 44). Bu nedenle, embriyonik gelişim sırasında başta glikoz olmak üzere karbonhidrat takviyesi ile civciv kalitesinin ve performansının olumlu yönde etkileeneceği ön görülmektedir (12). Baykalır ve ark. (31) kazlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla 11. ve 18. günlerde D-Glikoz monohidrat (dekstroz) + C vitamini uygulanan grupların ortalama kuluçka randıman değerlerinde istatistiki olarak önemli oranda azalma olduğu bildirilmiştir. Abdel-Halim ve ark. (15) etlik piliçlerde glikozun in ovo enjeksiyonun kuluçka kabiliyetini, civcivlerin canlı ağırlığını, yemden yararlanma ve ölüm oranını istatistiki olarak etkilemediğini bildirmiştir. Yine, Zhai ve ark. (45) etlik piliçlerde in ovo glikoz enjeksiyonu yapılan gruba kıyasla maltoz ve dekstroz enjeksiyonu yapılan gruplardaki civcivlerin kuluçkadan çıkım ağırlıklarında istatistiki olarak önemli artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Li ve ark. (20) etlik piliçlerde in ovo selenyum + glikoz beslenmesinin kontrol grubuna kıyasla karaciğer malondialdehit düzeyini önemli oranda düşürürken süperoksit dismutaz aktivitesini önemli oranda arttırdığını bildirmiştir.

Ghanaatparast-Rashti ve ark. (46) tavukların kuluçka randımanı, bağırsak histomorfometrisi, karaciğer ile göğüs kası glikojen içeriğine kuluçka sonrası su ve 48 saate kadar açlık durumunda in ovo beta-hidroksi beta-metilbutirat (HMB) enjeksiyonun kuluçka randımanı üzerinde etkisinin olmadığı, embriyoların amniyonuna dekstrin veya HMB verilmesinin villusun uzunluğu, genişliği ve yüzey alanı ile karaciğer ve göğüs kasının glikojen içeriğini arttırdığını bildirmiştir.

3.2. Kanatlılarda İn Ovo Yağ Kullanımı: Kuluçka sırasında kanatlı embriyolarının gelişimi yumurtaların besin madde bileşimine bağlıdır (47). Bu besin maddelerinden biri de lipitlerdir. Embriyoda yumurta sarısı kesesindeki lipit dağılımı farklı embriyonik aşamalarda değişmekte ve bu lipitler yüksek oranda yumurta sarısı kesesi aracılığıyla doğrudan embriyoların bağırsaklarına aktarılmaktadır (48, 49). Yağ asitleri, embriyonik gelişim sırasında enerji talebi arttığında ATP üretimi için mitokondriyal β -oksidasyonu arttıran önemli bir kaynaktır (50). Ancak güncel çalışmalar incelendiğinde yağ asitlerinin in ovo kullanımının embriyonik gelişime etkisi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Ma ve ark. (22), soya fasulyesi ve keten tohumu yağlarının in ovo enjeksiyonunun etlik civcivlerde kuluçka randımanı, çıkış ağırlığı, vücut ağırlığı ve bağırsaklık sistemi üzerine istatistiki olarak etkisinin olmadığını, soya fasulyesi yağı enjeksiyonu yapılan

grupta günlük yem tüketiminin keten tohumu yağı verilen gruba kıyasla önemli düzeyde arttığını bildirmiştir. Etlik piliçlerde in ovo kekik esansiyel yağı enjeksiyonunun gen ekspresyonunu modüle ederek ksenobiyotik detoksifikasyonunu (zararlı maddelerin vücuttan atılması) ve yağ metabolizmasını aktive ettiği, ayrıca 10 µL/yumurta ve üzerindeki dozların toksik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (51). Hindi civcivlerinde ise in ovo bütirik asit beslemesinin, sindirim sisteminin gelişimini desteklediği, bağırsak villus uzunluğunu artırarak besin emilimini iyileştirdiği bildirilmiştir (52).

3.3. Kanatlılarda İn Ovo Amino Asit Kullanımı:

Bir embriyonun büyümesi ve gelişimi için gereken amino asitlerden herhangi birinin eksikliği durumunda protein sentezinde aksamalar olacağından büyüme ve gelişme süreçlerinde sorunlar meydana gelmektedir (4, 53, 54). Bu sebepten dolayı embriyonik gelişim esnasında in ovo olarak amino asitlerin verilmesiyle civciv kalitesinin ve performansının olumlu yönde etkileneceği ön görülmektedir. Etlik piliç yumurtalarına, L-histidin ve β-alaninden sentezlenen endojen bir dipeptit olan L-karnosinin in ovo uygulamasının; civcivlerin vücut ağırlığını artırdığı, serum glikoz, düşük yoğunluklu lipoprotein ve trigliserit düzeylerini azalttığı, yüksek yoğunluklu lipoprotein, kalsiyum ve toplam protein seviyelerini ise artırdığı bildirilmiştir (55). Yine güvercin yumurtalarına kuluçkanın 13. gününde in ovo amino asit uygulamasının, yumurtadan çıkan civcivlerin ağırlığını, bazı organlarının (kalp, böbrek ve karaciğer gibi) oransal gelişimini ve ince bağırsak ağırlıklarını artırdığı tespit edilmiştir (56). Ayrıca ördek embriyolarına (25. gün) in ovo L-karnitin enjeksiyonunun enerji metabolizmasını iyileştirerek, kas gelişimine ve embriyonun enerji kullanımına katkıda bulunduğunu bildirilmiştir (35).

3.4. Kanatlılarda İn Ovo Vitamin Kullanımı:

Vitaminler, tavukların beslenmesinde kritik bir rol oynayan temel mikro besin maddeleridir. Özellikle embriyo gelişimi sırasında meydana gelen çok sayıda metabolik ve fizyolojik olaylarda bağırsıklık sisteminde görev alırken, aynı zamanda embriyonik metabolizma sonucunda ortaya çıkan oksidatif hasara karşı embriyoyu korumaktadırlar. Bu etkileri sayesinde yumurtadan çıkış oranı, çıkış sonrası performansın iyileşmesi ve civciv kalitesini artırmada etkili olduğu bildirilmektedir (54, 57). Nitekim kaz yumurtalarına kuluçkanın 24. gününde in ovo askorbik asit uygulamasının kuluçka ağırlığını, civciv boyutunu ve civciv kalitesini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (32). Benzer şekilde etlik piliç yumurtalarına kuluçkanın 17.5'inci gününde in ovo vitamin E enjeksiyonunun kuluçka oranlarını artırdığı, oksidatif stresi azalttığı ve civcivlerin genel durumunu iyileştirdiği ayrıca, erken gelişim döneminde daha iyi yemden yararlanma oranlarına katkı sağladığı tespit edilmiştir (19). Tarhan ve Peşmen (6), kuluçkalarının 18. gününde olan etlik piliç yumurtalarına in ovo uygulanan C vitamininin (3 ve 6 mg/yumurta), 3 mg dozunun en yüksek civciv ağırlığının elde edilmesini sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca, kuluçkanın 10. gününden itibaren embriyoların metabolik sıcaklığının artmasıyla oluşan sıcaklık stresini azaltmada C vitamininin etkili olduğu da bildirilmiştir (6).

3.5. Kanatlılarda İn Ovo Mineral Madde

Kullanımı: Tüm hayvanlar gibi kanatlı hayvanlar da yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için minerallere ihtiyaç duyarlar. Mineraller, protein ve enerjiye göre daha az ihtiyaç duyulmasına rağmen canlı organizmada önemli fonksiyonlara sahip besin maddeleridir. Minerallerin, normal kimyasal reaksiyonlarla sentezi söz konusu olmadığından hayvanların mineral bakımından yeterli kadar beslenmesi hem sağlıklı yaşam sürmeleri hem de verimli olabilmeleri için önem arz etmektedir (58). Aynı zamanda mineraller etlik piliçlerin embriyosunda iskelet, kas, immün ve kardiyovasküler sistemlerin gelişimi için önemli olduğundan yumurtanın farklı bölümlerinde depolanarak embriyonik gelişime katkıda bulunurlar (59, 60). Tavuklar yumurtaya aktaracakları mineralleri, yumurtalıktan yumurta sarısına veya yumurta kanalından albümin, kabuk ve kabuk zarına olmak üzere iki farklı yolla aktarırlar. Her biri farklı mineral çeşitliliği içeren bölümlerden biri olan yumurta sarısının, kuluçka sırasında embriyo için temel mineral kaynağı olduğu ve P, Zn, Cu, Mn ve Fe'nin çoğunu içerdiği, albüminin ise yumurtadaki başlıca Na ve K kaynağı olduğu ve çok düşük seviyelerde P, Fe, Cu, Mn ve Zn içerdiği bilinmektedir. Kabuk, yüksek miktarda Ca, az miktarda Fe, Mg, Mn, P ve Zn içerir. Embriyonun kullanılabilmesi için kabuktaki Ca salınımı yüksek orandayken, Mg ve iz miktarda Fe, Mn ve P kabuktan daha düşük oranlarda salınmaktadır (61). Embriyonik dönemde ve yumurtadan çıktıktan sonra Cu, Mn, P ve Zn eksikliği kemik gelişiminde sorunlara neden olmaktadır (62, 63). Ayrıca kuluçkanın son günlerinde yumurta sarısındaki Cu, Mn, P ve Zn miktarlarının düşük olmasından dolayı embriyo bu dönemde bu mineralleri çok az tüketir (64). Buna bağlı olarak, tibia ve femurda bozukluklar meydana gelir (65). Embriyonik dönemde ve yumurtadan çıktıktan sonraki ilk haftalarda minerallerin sınırlı mevcudiyeti nedeniyle hızlı büyüme döneminde iskelet gelişiminin sınırlandırdığı, dolayısıyla bacak problemlerinin görülme sıklığının artış gösterdiği bildirilmektedir (63, 65). Yair ve ark. (61) tarafından yapılan bir çalışmada, etlik piliç yumurtalarına kuluçkanın 17. gününde amniyon sıvısına organik (Zn, Mn ve Cu) ve inorganik (ZnSO₄, MnSO₄ ve CuSO₄) mineral solüsyonları enjekte edilmiştir. Organik ve inorganik madde gruplarındaki embriyoların, kuluçkanın 19. ve 21. günlerinde yumurta sarısındaki Cu, Mn ve Zn seviyelerini artırdığı bildirilmiştir. Amniyotik sıvıya yapılan in ovo mineral enjeksiyonlarının, mineral transferini hızlandırarak yumurta sarısının mineral içeriğini artırdığı bildirilmiş ve bu durum amniyotik sıvıdan mineral transferi olmasına ve amniyotik sıvının gastrointestinal sistem yoluyla yumurta sarısı kesesine taşınmasına bağlıdır (64).

3.6. Kanatlılarda Bazı Yem Katkı Maddeleri ile İn

Ovo Besleme: Yemlere ilave edilen katkı maddelerinin in ovo tekniğinde kullanılması ile ilgili araştırmaların sayısı giderek artmaktadır (66, 67). Bazı katkı maddelerinin in ovo enjeksiyon uygulamasıyla kuluçka parametrelerini ve performansı arttıracığı bildirilmektedir (54). Muyorikandy ve ark. (67), yumurtacı tavuklarda in ovo probiyotik (*Lactobacillus paracasei* DUP 13076 ve *L.rhamnosus* NRRL B 442) enjeksiyonunun embriyo

ağırlığını, tepe-kıç uzunluğunu, kuluçka ağırlığını ve kuluçka randımanını arttırdığını, probiyotik uygulanmış yumurtalardan çıkan civcivlerin kontrole göre %10 daha uzun ve %3 daha ağır olduğunu bildirmiş ve bu artışların civcivlerin probiyotik enjeksiyonu sonucunda yumurtadaki besinleri daha iyi kullanması ve yumurta çıkış sonrası büyümenin daha yüksek olmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Sıcak ve nemli ortamda etlik piliç civcivlerine in ovo karanfil ekstraktı uygulamasının yüksek kuluçka randımanı sağladığı, ayrıca hem karanfil hem de tarçın ekstraktlarının düşük dozlarının (2 mg/yumurta) in ovo enjeksiyonu ile civcivlerin ağırlığının ve anatomik gelişimlerinin iyileştiği, ancak daha yüksek dozların (4 mg/yumurta) daha az etkili olduğu tespit edilmiştir (66). Kuluçkanın 17.5'uncu gününde farklı dozlarla (2, 4, 6 ve 8 mg/yumurta) in ovo siyah çörekotu (*Nigella sativa*) ekstraktı enjeksiyonunun, sıcaklık stresi altındaki etlik piliç civcivlerinin kalitesini, kuluçka randımanını ve büyüme performansını iyileştirdiği, kuluçka oranlarını artırarak civciv ağırlığını ve büyümeyi geliştirdiği, ayrıca civcivlerin sıcaklık stresi altında daha iyi termal tolerans gösterdiği bildirilmiştir (13).

4. Sonuç

İn ovo besleme uygulamaları, civcivlerin embriyonal dönemde bağırsak gelişimini ve bağırsıklık sistemini güçlendirir, bu sayede civcivler yumurtadan çıktıklarında daha fazla besin maddesi depolamış olurlar. Bu uygulama, civcivlerin kalitesini, yaşama şansını ve performansını yükselterek, özellikle etlik piliç sektörü başta olmak üzere kanatlı hayvancılık sektöründe kârlılığı artırır ve giderek artan gıda ihtiyacının karşılanmasına katkı sağlar. Ayrıca, embriyonal dönemde in ovo besin maddelerinin verilmesi, özellikle damızlık beslenmede kuluçka verimi ve civciv kalitesi üzerindeki olası olumsuz etkileri önlemede önemli bir rol oynar. Embriyonal dönemde ihtiyaçlar göz önüne alınarak yapılan çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, in ovo karbonhidrat beslemesi ile

enerji bakımından embriyonun ihtiyacının karşılanması ve kuluçka parametreleri üzerine iyileştirici etkilerinin net olarak ortaya koyulmadığı, bu durumun verilen karbonhidratın çeşidi, dozu, uygulanan hayvan ırkı ve enjeksiyon zamanına bağlı olarak farklılık gösterebileceği vurgulanmaktadır. İn ovo yağ beslemesinin büyüme, gelişme ve bağırsıklık üzerine etkileri henüz belirgin değildir. Nitekim yapılan çalışmalara göre in ovo enjeksiyonuyla verilen yağın içeriği ve dozuna bağlı olarak farklı sonuçların elde edilebileceği tespit edilmiştir. İn ovo amino asit beslemesinin embriyonik gelişim sürecinde bağırsağın emilim kapasitesini yükselttiği, organ gelişimini desteklediği ve bu sayede kuluçka ağırlığını artırdığı sonucuna varılmıştır. İn ovo vitamin beslemesinin embriyo gelişiminde metabolizma sonucu ortaya çıkan veya sıcaklık stresine maruz kalındığında oluşan oksidatif hasara karşı embriyoyu koruduğu, kuluçka parametrelerini iyileştirdiği, özellikle C vitamininin in ovo beslemede kullanımının yaygın olduğu, ideal dozun ise 3 mg/yumurta olduğu bildirilmiştir. İn ovo mineral madde beslemesi etlik piliçlerin embriyosunda iskelet, kas, immün ve kardiyovasküler sistemlerinin gelişimi için önemlidir. İn ovo yem katkı maddeleri ile beslemenin etlik piliçlerde kuluçka ağırlığını, kuluçka randımanını, embriyonun kemik ve organ gelişimini artırdığı, özellikle probiyotiklerin in ovo enjeksiyonunun embriyoda pankreasın sindirim etkinliğini artırarak kuluçka sonrası civcivlerin yemden yararlanmasını iyileştirdiği rapor edilmiştir. Ayrıca katkı maddesi olarak kullanılan bitki ekstraktlarının içerik (biyoaktif bileşen vs.) ve dozuna bağlı olarak stres durumlarında embriyonun gelişim sürecinde meydana gelen serbest radikallere karşı antioksidan savunmayı güçlendirmektedir. Genel olarak in ovo besleme uygulamalarının kuluçka parametreleri ile kanatlılarda (özellikle etlik piliçlerde) besleme parametrelerini iyileştirici etkileri olduğu ancak bu konuda daha fazla yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Tufan M, Evren Ş. Etlik piliçlerde erken dönem besleme uygulamaları. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2021; 4: 176-185.
2. Bozbay CK, Konanç K, Ocak N, Öztürk E. Yumurta içi (in ovo) propolis enjeksiyonunun ve enjeksiyon yerinin kuluçka randımanı, civciv çıkış ağırlığı ve yaşama gücüne etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi* 2016; 3: 48-54.
3. Beiglou RE. Kanatlılarda in ovo besleme uygulamalarının bağırsak gelişimi ve performans üzerine etkileri. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi* 2010; 9: 34-40.
4. Ohta Y, Kidd MT. Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs. *Poultry Science* 2001; 80: 1425-1429.
5. de Oliveira JE, van der Hoeven-Hangoor E, van de Linde IB, et al. In ovo inoculation of chicken embryos with probiotic bacteria and its effect on posthatch *Salmonella* susceptibility. *Poultry Science* 2014; 93: 818-29.
6. Tarhan M, Peşmen C. Effects of in ovo injection of glucose and vitamin C on hatching performance in broiler fertile eggs. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 2023; 16: 100690.
7. Üçtepe Yiğit A. Broilerlerde in ovo teknik ve ticari uygulamaları. *Ziraat Fakültesi Dergisi* 2016; 11: 157-168.
8. Pawłowska J, Sosnowka-Czajka E, Nowak J, Skomorucha I, Połtowicz K. In ovo injection of bee pollen extract on hatchability, chick quality, glycogen reserves and production performance in broiler chickens. *Poultry Science* 2024; 103: 104035.
9. Tezcan Z. Farklı Formaldehit Fumigasyonu Uygulanan Etlik Piliç Kuluçkalık Yumurtalarına Rosmarinic Asit İn Ovo Enjeksiyonunun Kuluçka Sonuçlarına ve Sonraki Performansa Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Uşak: Uşak Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2021.
10. Zhu YF, Li SZ, Sun QZ, Yang XJ. Effect of in ovo feeding of vitamin C on antioxidation and immune function of broiler chickens. *Animal* 2018; 13: 1927-1933.
11. Zhao S, Ma H, Zou S, Chen W. Effects of in ovo administration of DHEA on lipid metabolism and hepatic lipogenic genes expression in broiler chickens during embryonic development. *Lipids* 2007; 42: 749-757.

12. Salmanzadeh M, Ebrahimnezhad Y, Shahryar HA, Beheshti R. The effects of in ovo injection of glucose and magnesium in broiler breeder eggs on hatching traits, performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. *Archiv für Geflügelkunde* 2012; 76: 277-284.
13. Oke OE, Oyelola OB, Iyasere OS, et al. In ovo injection of black cumin (*Nigella sativa*) extract on hatching and post hatch performance of thermally challenged broiler chickens during incubation. *Poultry Science* 2021; 100: 100831.
14. Tasharofi S, Mohammadi F, Amiri N, Nazem MN. Effects of intra-yolk-sac injection of dextrose and albumin on performance, jejunum morphology, liver and pectoral muscle glycogen and some serum metabolites of broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 2018; 102: 917-923.
15. Abdel-Halim AA, Mohamed FR, El-Menawey MAR, Gharib HB. Impact of in-ovo injection of folic acid and glucose on hatchability, and post-hatching performance of broiler chickens. *World's Veterinary Journal* 2020; 4: 481-491.
16. Gupta V, Ncho CM, Goel A, et al. In ovo feeding of α -ketoglutaric acid improves hepatic antioxidant-gene expression, plasma antioxidant activities and decreases body temperature without affecting broiler body weight under cyclic heat stress. *Poultry Science* 2024; 103: 103749.
17. Moran ET. Nutrition of developing embryo and hatchling. *Poultry Science* 2007; 86: 1043-1049.
18. Bauer R, Plieschnig JA, Finkes T, et al. The developing chicken yolk sac acquires nutrient transport competence by an orchestrated differentiation process of its endodermal epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry* 2013; 288: 1088-1098.
19. Araújo ICS, Café MB, Noletto RA, et al. Effect of vitamin E in ovo feeding to broiler embryos on hatchability, chick quality, oxidative state, and performance. *Poultry Science* 2019; 98: 3652-3661.
20. Li J, Shi Q, Xue Y, et al. The effects of in ovo feeding of selenized glucose on liver selenium concentration and antioxidant capacity in neonatal broilers. *Chinese Chemical Letters* 2024; 35: 109239.
21. Fernandes JIM, Prokoski K, Oliveira BC, et al. Evaluation of incubation yield, vaccine response, and performance of broilers submitted to in-ovo vaccination at different embryonic ages. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2016; 18: 55-63.
22. Ma H, Liang S, Wu H, et al. Effects of in ovo feeding and dietary addition oils on growth performance and immune function of broiler chickens. *Poultry Science* 2022; 101: 101815.
23. Neto FLK, Cosmo LG, Guimarães Jr PR, et al. Effects of in ovo vaccination time on broiler performance parameters under field conditions. *Poultry Science* 2024; 103: 103662.
24. Salmanzadeh M, Shahryar HA, Lotfi A. Effect of in ovo feeding of butyric acid on hatchability, performance and small intestinal morphology of turkey poults. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015; 21: 19-25.
25. Poyraz Ö, Akıncı Z, Özçelik M, Orman M, Evogliyan N. Bildiricilerde kuluçka süresinin büyüme özellikleri ve sıcak karkas ağırlığına etkileri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 1998; 38: 67-83.
26. Alsadoon MKK. Kuluçkalık bildiricinin yumurtalarına resveratrolun in ovo uygulamasının kuluçka sonuçlarına ve civciv performansı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.
27. Şentürk ET. Damızlık bildiricinin yumurtalarına in ovo organik çinko, manganez ve bakır enjeksiyonunun kuluçka parametreleri ve bazı doku özelliklerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.
28. Mangır M. Damızlık bildiricinin yumurtalarına in ovo pregnenolon enjeksiyonunun kuluçka performansına etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2021.
29. Tarım Orman Bakanlığı. "Kuluçka makinaları deney ilkeleri". [https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Belgeler/Hayvancılık/Kanatlı Yetiştiriciliği/Kaz Yetiştiriciliği/28.11.2024](https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Belgeler/Hayvancılık/Kanatlı%20Yetiştiriciliği/Kaz%20Yetiştiriciliği/28.11.2024).
30. Dang DX, Zhou H, Lou Y, Li D. Effects of in ovo feeding of methionine and/or disaccharide on post-hatching breast development, glycogen reserves, nutrients absorption parameters, and jejunum antioxidant indices in geese. *Frontiers in Veterinary Science* 2022; 9: 944063.
31. Baykalir Y, Mutlu SI, Erisir Z. 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* 2021; 1: 1-6.
32. Peşmen G. The Effect of Vitamin C in ovo injection on incubation results of fertile goose eggs. *OKU Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2023; 6: 408-415.
33. Nowaczewski S, Kontecka H, Krystianiak S. Effect of in ovo injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. *Folia Biologica (Kraków)* 2012; 60: 93-97.
34. Chen W, Wang R, Wan HF et al. Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. *British Poultry Science* 2009; 50: 436-442.
35. Gouda A, Tolba SA, Mahrose KM. Influences of vitamin A, L-carnitine, and folic acid in ovo feeding on embryo and hatchling characteristics and general health status in ducks. *Animal Biotechnology* 2022; 33: 150-158.
36. Wakenell PS, Brian T, Schaeffer J, et al. Effect of in-ovo vaccine delivery route on herpes virus of Turkey/SB-1 efficacy and viraemia. *Avian Disease* 2002; 46: 274-280.
37. Williams CJ, Hopkins BA. Field evaluation of the accuracy of vaccine deposition by two different commercially available in ovo injection systems. *Poultry Science* 2011; 90: 223-226.
38. Uni Z, Ferket RP. Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science* 2004; 60: 101-111.
39. Ebrahimi MR, Ahangari YJ, Zamiri MJ, et al. Does preincubational in ovo injection of buffers or antioxidants improve the quality and hatchability in long-term stored eggs. *Poultry Science* 2012; 91: 2970-2976.
40. Campos A, Rostagno H, Gomes P, et al. Effect of in ovo inoculation of nutritious solutions on the hatchability and performance of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2011; 40: 1712-1717.
41. Santos TT, Corzo A, Kidd MT, et al. Influence of in ovo inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research* 2010; 19: 1-1.

42. Oliveira JE, Uni Z, Ferket PR. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. *World's Poultry Science Journal* 2008; 64: 488-499.
43. Uni Z, Ferket PR, Tako E, Kedar O. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science* 2005; 84: 764-770.
44. Sunny NE, Bequette BJ. Glycerol is a major substrate for glucose, glycogen, and nonessential amino acid synthesis in late-term chicken embryos. *Journal of animal science* 2011; 89: 3945-3953.
45. Zhai W, Gerard PD, Pulikanti R, Peebles ED. Effects of in ovo injection of carbohydrates on embryonic metabolism, hatchability, and subsequent somatic characteristics of broiler hatchlings. *Poultry Science* 2011; 90: 2134-2143.
46. Ghanaatparast-Rashti M, Mottaghtalab M, Ahmadi H. In ovo feeding of nutrients and its impact on post-hatching water and feed deprivation up to 48 hr, energy status and jejunal morphology of chicks using response surface models. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2018; 102: e806-e817.
47. Meng Y, Qiu N, Guyonnet V, Mine Y. Omics as a window to unravel the dynamic changes of egg components during chicken embryonic development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2021; 69: 12947-12955.
48. van Der Wagt I, de Jong IC, Mitchell MA, et al. A review on yolk sac utilization in poultry. *Poultry Science* 2020; 99: 2162-2175.
49. Meng Y, Qiu N, Mine Y, Keast R. Comparative lipidomics of chick yolk sac during the embryogenesis provides insight into understanding the development-related lipid supply. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2021; 69: 7467-7477.
50. Bradley J, Swann K. Mitochondria and lipid metabolism in mammalian oocytes and early embryos. *International Journal of Developmental Biology* 2019; 63: 93-103.
51. Niknafs S, Meijer MMY, Khaskheli AA, Roura E. In ovo delivery of oregano essential oil activated xenobiotic detoxification and lipid metabolism at hatch in broiler chickens. *Poultry Science* 2024; 103: 103321.
52. Salmanzadeh M, Shahryar HA, Lotfi A. Effect of in ovo feeding of butyric acid on hatchability, performance and small intestinal morphology of turkey poults. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015; 21: 19-25.
53. Wereńska M, Okruszek A. Wartość odżywcza różnego rodzaju jaj. *Nauki Inżynierskie i Technologie* 2011; 3: 212-224.
54. Abdulqader AFA, Olgun O, Yıldız AÖ. In ovo besleme. *Hayvansal Üretim* 2017; 58: 58-65.
55. Keshtkaran M, Hassanpour S, Asadollahi KP, Zendeheel M. Effects of in ovo injection of the L-carnosine on physiological indexes of neonatal broiler chicken. *Poultry Science* 2024; 103: 103380.
56. Zhang XY, Li LL, Miao LP, et al. Effects of in ovo feeding of cationic amino acids on hatchability, hatch weights, and organ developments in domestic pigeon squabs (*Columba livia*). *Poultry Science, Poultry science* 2018; 97: 110-117.
57. Kucharska-Gaca J, Kowalska E, Dębowska M. Feeding-technology of the future—a review. *Annals of Animal Science* 2017; 17: 979-992.
58. Ulger İ, Fidan H. Organik, inorganik ve nano minerallerin etlik piliçlerde etkinlikleri. *Erciyes Tarım Ve Hayvan Bilimleri Dergisi* 2021; 4: 20-26.
59. Favero A, Vieira SL, Angel CR, et al. Development of bone in chick embryos from Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. *Poultry science* 2013; 92: 402-411.
60. Oviedo-Rondon EO, Leandro NM, Ali R, et al. Broiler breeder feeding programs and trace minerals on maternal antibody transfer and broiler humoral immune response. *Journal of Applied Poultry Research* 2013; 22: 499-510.
61. Yair R, Shahar R, Uni Z. In ovo feeding with minerals and vitamin D3 improves bone properties in hatchlings and mature broilers. *Poultry science* 2015; 94: 2695-2707.
62. Caskey CD, Norris LC, Heuser GF. A chronic congenital ataxia in chicks due to manganese deficiency in the maternal diet. *Poultry Science* 1944; 23: 516-520.
63. Dibner JJ, Richards JD, Kitchell ML, Quiroz MA. Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research* 2007; 16: 126-137.
64. Yair R, Uni Z. Content and uptake of minerals in the yolk of broiler embryos during incubation and effect of nutrient enrichment. *Poultry Science* 2011; 90: 1523-1531.
65. Yair R, Uni Z, Shahar R. Bone characteristics of late-term embryonic and hatchling broilers: Bone development under extreme growth rate. *Poultry Science* 2012; 91: 2614-2620.
66. Akosile OA, Majekodunmi BC, Sogunle OM, et al. Research note: Responses of broiler chickens to in ovo feeding with clove and cinnamon extract under hot-humid environments. *Poultry Science* 2023; 102: 102391.
67. Muyyarikkandy MS, Mathew E, Kuttappan D, Amalaradjou MA. Research note: In ovo and in-feed probiotic supplementation improves layer embryo and pullet growth. *Poultry Science* 2023; 102: 103092.