



## Effects of Amino Acid Density and Protease Addition to Laying Hen Diets on Performance, Egg Quality and Nitrogen Excretion<sup>#</sup>

Hulüsi Ozan Taşkesen<sup>1,a,\*</sup>, Necmettin Ceylan<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Bozok University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Yozgat, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Ankara, Türkiye

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><sup>#</sup>The research is summarized from the first author's doctoral thesis</p> <p>Research Article</p> <p>Received : 17-08-2023 Accepted : 12-09-2023</p> <p>Keywords: Protease Performance Protein Nitrogen Egg quality</p>	<p>In this study, the effects of commercial protease enzyme supplementation to diets with different digestible amino acid levels on performance, egg quality parameters and nitrogen excretion of laying hens were evaluated. The study was carried out with 336 Brown Nick laying hens from 26 weeks to 56 weeks of age. The experiment was conducted with 4 treatment groups and 12 replicates with 7 animals in each replicate. In a factorial arrangement, 4 dietary treatments (2 amino acid levels; normal and 6% lower x with or without enzyme supplementation) were randomly assigned to the experimental blocks. Protease supplementation to Brown Nick laying hens had no significant effect on egg production, egg weight, feed intake, feed conversion, live weight, egg quality and nitrogen excretion, while amino acid levels had significant effects on egg production, egg weight and weekly feed intake, but these effects were not reflected in the overall experiment. The interaction between amino acid levels and protease addition was found to be statistically significant; Haugh unit was improved with protease in standard amino acid diets, while there was no significant change in low amino acid diets. The interaction between amino acid levels and protease supplementation was statistically significant for the ratio of nitrogen excreted to nitrogen consumed. Nitrogen excreted improved with protease supplementation in normal amino acid diets, while there was no significant change in low amino acid diets. It was concluded that when digestible essential amino acid requirements are met according to the ideal amino acid profile, it is possible to reduce the recommended protein and amino acid levels by 6% without adversely affecting performance and egg quality in commercial brown layers. Furthermore, protease supplementation has no significant effect on hen performance or egg quality of brown layers at these amino acid levels.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(9): 1706-1714, 2023

## Yumurta Tavuğu Rasyonlarında Amino Asit Yoğunluğu ve Proteaz İlavesinin Performans, Yumurta Kalitesi ve Azot Atılımı Üzerine Etkileri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p>Araştırma Makalesi</p> <p>Geliş : 17-08-2023 Kabul : 12-09-2023</p> <p>Anahtar Kelimeler: Proteaz Performans Protein Azot Yumurta kalitesi</p>	<p>Bu çalışmada farklı sindirilebilir amino asit seviyelerindeki rasyonlara ticari proteaz enzimi ilavesinin yumurta tavuklarının performansı, yumurta kalite parametreleri ve azot atılımı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma, 26 haftalık yaştan 56 haftalık yaşa kadar olan 336 adet Nick Brown yumurta tavuğu ile yürütülmüştür. Deneme 4 muamele grubu, ve her tekrerde 7 hayvan olacak şekilde 12 tekrarla yürütülmüştür. Faktöriyel bir düzende 4 rasyon uygulaması (2 amino asit seviyesi; normal ve %6 daha düşük x enzim takviyeli veya takviyesiz) deneme bloklarına rastgele atanmıştır. Nick Brown yumurta tavuklarına proteaz ilavesinin canlı ağırlık, yumurta ağırlığı, yumurta verimi, yumurta kalitesi, yem değerlendirme, yem tüketimi ve azot atılımı üzerinde önemli bir etkisi olmazken; amino asit seviyelerinin yumurta verimi, yumurta ağırlığı ve haftalık yem tüketimi üzerinde önemli etkileri olduğu, ancak bu etkilerin deneme geneline yansımadağı belirlenmiştir. Amino asit seviyeleri ve proteaz ilavesi arasındaki interaksyon istatistiksel olarak önemli bulunmuş; Haugh birimi standart amino asit rasyonlarında proteaz ile iyileşirken, düşük amino asit seviyeli rasyonlarda önemli bir değişiklik olmamıştır. Amino asit seviyeleri ve proteaz ilavesi arasındaki interaksyon, atılan azot / tüketilen azot oranı için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Atılan azot, normal amino asit rasyonlarında proteaz ilavesi ile iyileşirken; düşük amino asit rasyonlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. Sindirilebilir esansiyel amino asit gereksinimleri ideal amino asit profiline göre karşılandığında, ticari kahverengi yumurtacılarda performansı ve yumurta kalitesini olumsuz etkilemeden önerilen protein ve amino asit seviyelerini %6 oranında azaltmanın mümkün olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, proteaz ilavesinin söz konusu amino asit seviyelerinde Kahverengi yumurtacı tavukların performansı veya yumurta kalitesi üzerinde önemli bir etkisi yoktur.</p>

<sup>a</sup> [taskesen84@gmail.com](mailto:taskesen84@gmail.com)

<sup>1D</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8732-5868>

<sup>b</sup> [ceylan@agri.ankara.edu.tr](mailto:ceylan@agri.ankara.edu.tr)

<sup>1D</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7762-6955>



## Giriş

Protein, optimum yumurta verimi için yumurta tavuğu rasyonlarında kullanılan en pahalı bileşenler arasında yer almaktadır. Kanatlı rasyonlarındaki uygun ham protein (HP) seviyeleri yem değerlendirmeyi geliştirir ve dışkıyla azot atılımını azaltarak çevresel kirlenmeyi düşürür (Novak ve ark., 2006, 2007).

Yumurta tavuğu rasyonlarında HP yararlanımını optimize etmek için çok çeşitli yaklaşımlar denenmiştir. Bunlardan biri, rasyondaki HP seviyesini düşürmektir. Blair ve ark. (1999), esansiyel amino asitlerin (AA) ilave edildiği düşük HP (%13,5 HP) içerikli rasyonlarla performansın istenilen seviyelerde sürdürülebildiğini göstermişlerdir. Junqueira ve ark. (2006), %16 ve %20 arasındaki HP seviyeleri ile beslenen ikinci verim dönemindeki hayvanlar için benzer sonuçlar bildirmektedirler. Khajali ve ark. (2008)'in bildirişine göre, düşük HP içerikli rasyonlarla beslenen yumurta tavuklarında kısa vadede performansta bir sorun oluşmamakta ancak uzun vadede, üretimin geç dönemlerinde performansta düşüşler gözlenmektedir. Latshaw ve Zhao (2011), yem tüketiminin 17 g HP/gün seviyesinden 15 g HP/gün seviyesine düşürülmesinin yumurta tavuğu performansını etkilemediğini bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada toplam kükürlü amino asitlerin (TSAA) %0,71'den %0,65 seviyesine çekilmesinin yumurta ağırlığını düşürdüğü bildirilmektedir (Correa ve ark., 2007).

Ekzojen enzimlerin en yaygın kullanıcılarından birisi de kanatlı endüstrisidir. Kanatlı sektörünün yoğun entegre yapısı bu yeni teknolojilerin hızla kabulüne izin vermiş ve yemlere ekzojen enzim katkısı günümüzde besin maddelerinin sindirilebilirlik ve yararlanımının iyileştirilmesi için bir norm haline almıştır. Ekzojen enzimler arasında, yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz ilavesi yıllardır rutin bir uygulama haline almış olup, büyük ölçüde ksilanaz, pektinaz, glukanaaz, amilaz ve diğer enzimlerin dahil olduğu karışımlar halinde uygulanırlar (Simbaya ve ark., 1996; Cowieson ve Adeola, 2005; Cowieson ve Ravindran, 2008). Proteaz enzimlerinin başka ekzojen enzimler ile birlikte kullanıldığı böyle çalışmalarda yumurta tavuklarında üzerinde durulan özelliklerde iyileşme görüldüğünü bildiren çalışmalar (Jaroni ve ark., 1999; Lima ve ark., 2012; Hahn Didde ve Purdum, 2014; Filho ve ark., 2015; Barbosa ve ark., 2016) kadar enzim katkısının etkisi olmadığını bildiren çalışmalar (Freitas ve ark., 2000; Gunawardana ve ark., 2009; Abudabos, 2011; Wen ve ark., 2012; Yusrizal ve ark., 2013; Vieira ve ark., 2016) da mevcuttur. Ancak proteaz, enzim karışımlarının önemli bir bileşeni olsa da, literatürde tek başına proteaz aktivitesi üzerine çalışmalar kısıtlıdır.

Yumurta tavuklarının protein beslemesi ile ilgili ortaya çıkan yeni gelişmeler ve özellikle proteaz enzimlerinin ticari olarak üretiminin gerçekleştirilmesiyle proteaz enzimi ilavesi ve sindirim arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Yine bu gelişmelere paralel olarak rasyon uygulamalarında da önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu araştırmanın amacı, farklı amino asit seviyeleri ile oluşturulan rasyonlarla beslenen yumurta tavuklarında ticari proteaz enzimi (Ronozyme ProAct®) kullanımının performans, yumurta kalitesi ve protein sindirilebilirliği üzerine etkilerini incelemektir.

## Materyal ve Yöntem

Tüm deneysel prosedürler Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (2016-18-159). Araştırma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Yumurta Tavuğu Araştırma Kümesinde yürütülmüştür. Araştırmada Kahverengi Nick ticari ırkına mensup 336 adet yarka kullanılmıştır. 20 Haftalık yaşta araştırma kümesine alınan hayvanların verim düzeyleri dikkate alınarak %80 verim seviyesine ulaşıldığında, 26. haftada denemeye başlanmıştır. Deneme 4 muamele grubu ve her grupta 12 tekerrür, her tekerrürde 7 hayvan olacak şekilde gerçekleştirilmiş, araştırma 30 hafta boyunca sürdürülmüştür. Çizelgelerde deneme süresi olan 30 hafta (26-56. haftalar arası) "1-30 haftalık" deneme süresi olarak gösterilmiştir. Deneme, kahverengi yumurta tavuklarının besin maddesi ihtiyaçları (115 g yem tüketimine göre) gözönüne alınarak, 2 amino asit seviyesi (Normal veya düşük) × 2 proteolitik enzim ilavesi (proteaz var veya yok) ile yürütülmüştür (Çizelge 1).

Çizelge 1. Deneme gruplarının özellikleri

Table 1. Characteristics of the experimental groups

R	AA seviyesi	Enzim	Tanım
1	Normal	-	Pozitif kontrol, bildirilen gereksinimleri içeren bazal rasyon (Rasyon 1)
2	Normal	+	Pozitif kontrol (rasyon 1) + Proteaz (200 g/ton yem)
3	Düşük	-	Negatif kontrol, %6 düşük AA seviyesi (Rasyon 3)
4	Düşük	+	Negatif kontrol (rasyon 3) + Proteaz (200 g/ton feed)

R: Rasyon; AA: Amino Asit, Proteaz: Ronozyme ProAct® (Serin Proteaz – EC 3.4.21– toz form)

Ronozyme ProAct® (Serin proteaz; EC3.4.21-), ticari toz formda DSM Nutritional Products Ltd. firmasından sağlanmış ve rasyona 200 ppm düzeyinde katılmıştır.

Denemede kullanılan kahverengi yumurta tavukları için temel rasyonlar Çizelge 2'de verilmişlerdir. Denemede mısır, buğday ve soya küspesi ağırlıklı yemlerle sindirilebilir amino asit esasına göre formüle edilmiş rasyonlar, sindirilebilir esansiyel amino asit ihtiyaçlarının karşılanması esasına göre formüle edilerek hazırlanmıştır. Hayvanların besin maddesi gereksinimleri günlük 115 g yem tüketimi esas alınarak sindirilebilir amino asitler üzerinden hesaplanmıştır.

Düşük sindirilebilir AA içerikli rasyonlar, normal sindirilebilir AA seviyelerine göre esansiyel amino asitlerin %6 düşürülmesi ile oluşturulmuştur. Formülasyon sürecinde, Met, Met+Cys, Lys, Thr, Ile, Val, Trp ve Arg amino asitlerinin minimum seviyelerde uygulanmasına bağlı olarak HP seviyesi sınırlanmamıştır. Düşük AA içerikli temel rasyondaki Met+Cys, Lys ve Thr seviyeleri, bu amino asitlerin kristal formlarının varlığına bağlı olarak tam %6 seviyesinde düşürülmüştür. Ancak, diğer AA seviyelerindeki düşüşler normal AA içerikli rasyondaki seviyelerine bağlı olarak %-6 düzeyinde seyretmiştir.

Çizelge 2. Nick Brown kahverengi yumurta tavuğu besin madde ihtiyaç önerileri ve araştırmada kullanılan bazal ve deneme rasyonlarının kompozisyonu ile besin maddesi analiz değerleri

Table 2. Nutrient requirement recommendations for Nick Brown laying hens and composition and nutrient analysis values of basal and experimental diets used in the study

Hammaddeler	Bazal Rasyonlar,%		Deneme Rasyonları,%			
	SAE <sup>1</sup> normal densite çözümü	SAE düşük densite,-%6 çözümü	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup
Mısır	51,66	53,38	51,66	51,66	53,38	53,38
Buğday	20	20	20	20	20	20
Soya Küspesi	17,31	15,72	17,31	17,31	15,72	15,72
Bitkisel Yağ	0,35	0,15	0,35	0,35	0,15	0,15
Kireç Taşı	8,43	8,42	8,43	8,43	8,42	8,42
DCP	1,53	1,57	1,53	1,53	1,57	1,57
Tuz	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
NaHCO <sub>3</sub>	0,06	0,12	0,06	0,06	0,12	0,12
Vitamin premiks <sup>2</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Mineral premiks <sup>3</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
DL-Methionine	0,11	0,09	0,11	0,11	0,09	0,09
Kolin Cl-(%60)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Proteaz Enzimi				0,02		0,02
Toplam	100	100				
	Hesaplanan İçerik		Analiz Edilen İçerik			
Nick Brown Besin madde Önerisi	SAE-normal çözüm	SAE düşük yoğunluklu çözüm	1.grup Yemi	2.grup Yemi	3.grup Yemi	4.grup Yemi
ME, kcal/kg	2750	2755	2755			
Ham protein%	16,7	14,27	13,64	13,7	13,4	12,9
Ham yağ,%		3,13	2,95	3,2	3,2	2,9
Ham selüloz,%		2,37	2,36	2,1	2,3	2,3
Ca%	3,57	3,6	3,6			
Yararlı P.%	0,37	0,37	0,37			
Arjinin %	0,8	0,88	0,83	0,8	0,83	0,77
Sind. <sup>4</sup> Arg %	0,65	0,80	0,76			
Isolösin %	0,6	0,59	0,56	0,52	0,55	0,51
Sind. Ile %	0,5	0,53	0,50			
Lizin %	0,76	0,70	0,65	0,68	0,7	0,65
Sind. Lizin %	0,63	0,63	0,59			
Metionin %	0,38	0,35	0,32	0,37	0,34	0,33
Sind.Met %	0,31	0,33	0,30			
Met + Sis %	0,69	0,63	0,59	0,63	0,6	0,57
Sind.Met+Sis	0,57	0,57	0,53			
Treonin %	0,53	0,51	0,48	0,49	0,51	0,48
Sind. Thr %	0,43	0,43	0,41			
Valin %	0,64	0,69	0,66	0,62	0,63	0,6
Sind.Val %	0,55	0,62	0,59			

<sup>1</sup>:SAE:Sindirilebilir Amino Asit Esaslı Rasyon Çözümü, <sup>2</sup>Vitamin Premiks: 1 tona katılmak üzere; 12000000 IU vitamin A, 3500000 IU Vitamin D3, 120000 mg Vitamin E, 5000 mg Vitamin K, 3000 mg Vitamin B1, 12000 mg Vitamin B2, 55000 mg Niasin, 4500 mg Vitamin B6, 30mg Vitamin B12, 2000 mg Folik Asit, 250 mg Biotin, 125000 mg antioksidan; <sup>3</sup>Mineral Premiks: 1 tona katılmak üzere; 120000 mg mangan, 50000 mg demir, 110000 mg çinko, 16000 mg bakır, 2000 mg iyod, 300 mg selenyum <sup>4</sup>Sind.:Sindirilebilir

Tüm rasyonlar mısır, buğday ve soya küspesi temelli olarak hazırlanmış, bazal rasyonların besin madde içerikleri Brown Nick Yetiştirme Kılavuzu'nda önerilen değerler de dikkate alınarak hazırlanmıştır (Anonymous, 2012). Her hafta başında her bölmenin 1 haftalık yemleri tartılarak yem kovalarına konulmuş ve her gün bu deneme yemlerinden tavukların ihtiyacını karşılayacak kadar verilmiş, takibeden haftanın başında kalan yemler tartılarak haftalık yem tüketimleri belirlenmiştir. Deneme süresince yumurta verimi kaydedilmiş ve her gün deneme yemlerinden tavukların ihtiyacını karşılayacak kadar yem verilmiştir. Elde edilen yumurtalar haftalık olarak tartılmış, verilen yemden kalan miktarlar da haftalık olarak tartılıp yeniden bir haftalık yem tahsisi yapılmıştır. Yem değerlendirme de haftalık yumurta üretimi ve yem tüketimi dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Elde edilen yumurtalar aylık olarak kayıt altına alınarak yumurta kalitesi analizleri yapılmıştır. Bunun için kabuk

ağırlığı, kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, albümen yüksekliği, sarı rengi, şekil indeksi ve haugh birimi (Eisen ve ark., 1962; Csuka ve Ledec, 1981) ölçülmüştür.

Tavuklar 39 haftalık yaşa ulaştıklarında, tekerrürlerin dışı bandı üzerine tepsiler yerleştirilmiş ve 48 saat boyunca dışkılar biriktirilmiştir. 48 saatin bitmesini takiben dışkılar tekerrür bazında tartılıp karıştırılmış ve 50 g dışkı azot analizleri için örnek olarak ayrılıp, analize kadar derin dondurucuda saklanmıştır. Kalan dışkı örneklerine kuru madde analizi yapılmıştır. Tavukların yedikleri yemlerden de örnekleme yapılarak azot analizleri yürütülmüştür. Analiz için ayrılan dışkı örneklerinde azot ve protein analizleri yapılmış, dışkı biriktirme yöntemi ile protein sindirilebilirliği ve dışkıdaki azot oranları tespit edilmiştir (Akyıldız 1984).

Toplanan dışkılarının analizlerinin tamamlanmasının ardından, ileal sindirilebilirliklerin belirlenmesi amacıyla 72 saat boyunca, her muamele grubundan 6 tekerrürün

yemlerine %0,1 titanyum oksit (TiO<sub>2</sub>) karıştırılmış (belirteç yöntemi), hayvanlar 72 saat bu yemlerle beslenmiş, 72 saat sonunda tekerrürlerden üçer adet hayvanda (18 tavuk/grup) sindirim kanalı ileal içeriği Ravindran ve ark. (1999) tarafından bildirilen yöntemi kullanılarak alınmıştır. Buna göre, ileumun alt yarısının içeriği distile suyla hassas bir şekilde yıkanarak plastik kaplara toplanmıştır. İleum, ince bağırsağın vitellin divertikülünden ileo-sekal bağlantı noktasının 40 mm ilerisine kadar uzanan kısmı olarak tanımlanmıştır. Aynı bölmeden örneklenen tavukların ileal içerikleri bir araya getirilerek tekerrür başına üç bileşik örnek elde edilmiştir. Bağırsak içerikleri toplandıktan hemen sonra dondurulmuş ve kimyasal analizler için -4°C'de hava geçirmez kaplarda saklanmıştır, örnekler freez dryer'da (A.Ü. Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü) kurutulmuş ve protein ve amino asit analizleri (AOAC 2005) gerçekleştirilmiştir.

Protein Sindirilebilirliği = ((Yem Proteini - (Dışkı Proteini × (Yem TiO<sub>2</sub> düzeyi / Dışkı TiO<sub>2</sub> düzeyi) / Yemin proteini)) × 100

Deneme başında (26 haftalık yaş), ortasında (39 haftalık yaş) ve sonunda (56 haftalık yaş) hayvanlar tartılarak canlı ağırlıklar belirlenmiş, aynı haftalarda yem örnekleri toplanıp besin maddesi ve enzim etkinliği bakımından da analiz edilmiştir.

### İstatistik Analizler

Denemenin tüm değişkenlerine ilişkin veriler, 4 grup olarak (2 AA seviyesi x 2 enzim ilavesi) 12 tekerrür halinde tesadüf blokları düzeninde, Statistica (1984)'nin ANOVA/MANOVA prosedürü kullanılarak değerlendirilmiştir. Ana etkiler ve ana etkiler arası interaksiyonlar da hesaplanmıştır. Kafes bölmeleri tüm analizler için deneysel birim olarak kabul edilmiştir. Önemli farklılıklar (P<0,05) saptanması halinde ortalamalar Tukey HSD testi kullanılarak ayrılmıştır.

### Bulgular

Farklı amino asit seviyesindeki rasyonlarla beslenen yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz ilavesinin 30 haftalık deneme dönemindeki yumurta verimi, yumurta üretimi, yumurta ağırlığı, yem tüketimi, yemden yararlanma ve canlı ağırlıklar üzerine olan etkileri Çizelge 3'te verilmiştir. Yumurta verimi bakımından muamele grupları

arasında enzim ilavesi ve AA yoğunluğu ile ilişkili istatistiksel bir önemi bulunmamıştır (P>0,05). Yumurta verimi 30 haftalık deneme döneminde genel olarak yüksek seyretmiş ve tüm gruplarda ortalama %92'nin üzerinde olmuştur. Enzim ilavesinin yumurta verimi üzerinde deneme genelinde önemli bir etkisi gözlenmezken, amino asit yoğunluğu ve enzim ilavesinin ikili interaksiyonu da, deneme genelinde verim üzerinde önemli bir etki yaratmamıştır (P>0,05).

Rasyonlara enzim ilavesinin yumurta ağırlığı üzerine 30 haftalık dönem genelinde bir etkisi gözlenmemiştir (P>0,05). Standart amino asit yoğunluğuna sahip rasyonlarda, %6 düşük amino asit içerikli rasyonlara nispeten yumurta üretimi bakımından bir fark gözlenmemiştir (P>0,05).

Yumurta verimi ve yumurta ağırlığına benzer şekilde, enzim ilavesinin 30 haftalık deneme boyunca yumurta üretimi üzerinde önemli bir etkisi bulunmamıştır (P>0,05). Yem tüketimi üzerine amino asit yoğunluğu veya enzim ilavesinin etkisi bulunmamıştır (P>0,05).

Rasyonlara proteaz ilavesinin deneme boyunca yemden yararlanma üzerine istatistiksel olarak önemi bir etkisi bulunmamıştır. Rasyonların amino asit yoğunluğu, yemden yararlanma üzerinde etkili olmuş; yemden yararlanma normal amino asit seviyeli rasyonlarda, % 6 düşük amino asit içeren rasyonlara göre iyileşmiştir (P<0,05). Araştırmaya başlarken hayvanlar gruplara canlı ağırlık bakımından homojen bir şekilde dağıtılmış, araştırmanın sonuna gelindiğinde canlı ağırlık ve canlı ağırlık değişimleri bakımından gruplar arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır (P>0,05). Birinci ve ikinci dönem canlı ağırlık değişimi incelendiğinde tüm gruplarda 263 - 290 g aralığında bir azalma gerçekleştiği görülmektedir. Düşük amino asit yoğunluklu rasyonlara enzim ilave edilmesi en fazla ağırlık değişimine yol açarken, normal amino asit yoğunluklu enzimsiz rasyonlarla beslenen tavukların ağırlık değişimi en düşük düzeyde kalmış ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05).

Farklı amino asit seviyesindeki rasyonlarla beslenen kahverengi yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz ilavesinin 30 haftalık dönemdeki yumurta kalite kriterleri (Ak yüksekliği, sarı rengi, kabuk kalınlığı, kabuk mukavemeti, Haugh birimi ve yumurta özgül ağırlığı) üzerine etkileri Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3. Farklı amino asit seviyesindeki kahverengi yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz enzim ilavesinin yumurta verimi, yumurta üretimi, yumurta ağırlığı, yem tüketimi, yemden yararlanma ve canlı ağırlık üzerine etkisi (%)  
Table 3. Effect of protease supplementation on egg production, egg production, egg weight, feed intake, feed conversion, feed conversion efficiency and live weight in brown laying hen diets with different amino acid concentrations (%)

AA Yoğ.	Eİ	YV		YÜ		YA		YT		YY		Canlı Ağırlık (g)*	
		1 - 30 hafta	1 - 30 hafta	1 - 30 hafta	1 - 30 hafta	1 - 30 hafta	1 - 30 hafta	1.Dönem (0-15 hafta)	2.Dönem (16-30 hafta)	Değişim			
Normal	Y	93,20±0,78	57,5±0,47	61,70±0,37	106,40±0,82	1,85±0,02	1901,49±32,36	1638,30±36,20	-263,19±18,08				
Normal	V	94,60±0,68	58,0±0,58	61,30±0,45	106,50±0,91	1,84±0,01	1889,46±25,62	1611,92±27,16	-277,54±23,12				
%6 Düşük	Y	93,40±0,59	56,9±0,58	60,90±0,45	106,70±1,11	1,88±0,02	1865,29±32,09	1587,99±33,98	-277,29±18,12				
%6 Düşük	V	92,70±0,81	56,5±0,77	61,00±0,46	106,30±1,11	1,88±0,02	1878,71±27,76	1588,61±23,09	-290,10±15,14				
Normal		93,90±0,53	57,7±0,37	61,50±0,29	106,40±0,60	1,85±0,01	1895,47	1625,11	-270,364				
%6 Düşük		93,00±0,50	56,7±0,47	60,90±0,31	106,50±0,77	1,88±0,01	1872,00	1588,30	-283,698				
	Y	93,30±0,48	57,2±0,37	61,30±0,30	106,60±0,68	1,87±0,01	1883,4±22,6	1613,1±24,8	-270,2±12,60				
	V	93,60±0,55	57,2±0,50	61,10±0,32	106,40±0,70	1,86±0,01	1884,1±18,5	1600,3±17,6	-283,8±13,58				
AA Yoğunluğu (AA)		0,136	0,13	0,06	0,09	0,88	0,04	0,14	0,07				
Enzim (E)		0,562	0,56	0,89	0,61	0,76	0,79	0,96	0,51				
AA x E		0,092	0,09	0,43	0,49	0,58	0,52	0,42	0,49				

Eİ: Enzim İlavesi; V: Var; Y: Yok; YV: Yumurta Verimi (%); YÜ: Yumurta Üretimi (g/tav/gün); YA: Yumurta Ağırlığı (g); YT: Yem Tüketimi (g/tavuk/gün); YY: YY (g yem / g yumurta üretimi); AA Yoğ: Amino asit yoğunluğu, YY: yemden yararlanma; Deneme Başı Canlı Ağırlıkları: 1320 g

Çizelge 4. Farklı amino asit seviyesindeki kahverengi yumurta tavuğu yemlerinde proteaz ilavesinin yumurta kalite kriterlerine etkisi

Table 4. Effect of protease supplementation on egg quality criteria in brown laying hen diets with different amino acid concentrations

AAY	Eİ	Deneme boyunca yumurta kalite özellikleri (1. Hafta -30. hafta)						
		SR	AY	KKD	KK	KA	HB	YÖA
Normal	Y	12,72±0,05	6,20±0,15	37,73±0,92	0,34±0,005	5,62±0,08	77,23±1,24	1,08±0,001
Normal	V	12,62±0,08	6,64±0,21	37,51±1,43	0,33±0,004	5,55±0,07	80,24±1,56	1,08±0,002
%6 Düşük	Y	12,83±0,05	6,48±0,16	37,54±1,40	0,33±0,005	5,50±0,08	79,73±0,96	1,08±0,002
%6 Düşük	V	12,67±0,05	6,23±0,12	38,52±0,97	0,34±0,003	5,60±0,06	77,75±0,84	1,08±0,001
Normal		12,67±0,05	6,42±0,13	37,62±0,83	0,34±0,003	5,59±0,05	78,73±1,02	1,08±0,001
%6 Düşük		12,75±0,04	6,36±0,10	38,03±0,84	0,34±0,003	5,55±0,05	78,74±0,65	1,08±0,001
	Y	12,78±0,04	6,34±0,11	37,64±0,82	0,34±0,003	5,56±0,06	78,48±0,81	1,08±0,001
	V	12,65±0,05	6,44±0,13	38,01±0,85	0,33±0,003	5,58±0,05	79,00±0,91	1,08±0,001
P Değeri								
AA Yoğunluğu (AA)		0,06	0,53	0,69	0,77	0,84	0,66	0,41
Enzim (E)		0,22	0,67	0,67	0,87	0,56	0,94	0,61
AA × E		0,66	0,03	0,53	0,43	0,20	0,004	0,77

AAY: Amino asit Yoğunluğu; Eİ: Enzim İlavesi; V: Var; Y: Yok; SR: Sarı rengi; AY: Albümen yüksekliği; KKD: Kabuk kırılma direnci, N; KK: Kabuk kalınlığı, mm; KA: Kabuk ağırlığı, g; HB: Haugh birimi; YÖA: Yumurta Özgül ağırlığı

Çizelge 5. Kahverengi yumurta tavuklarında enzim ilavesinin dışkı azotu ve azot atılımı üzerine etkileri

Table 5. Effects of enzyme supplementation on fecal N and N excretion balance in brown layers

AA yoğunluğu	Enzim ilavesi	Dışkı N, %KM de	Atılan N/Tüketilen N oranı, %	N veya HP sindirilebilirliği, %	KM sindirilebilirliği, %
Normal	Yok	3,35±0,102ab	18,83±0,892 a	81,17±0,892 a	85,30±0,985
Normal	Var	3,75±0,153 a	23,08±1,830 b	76,92±1,830 b	84,07±0,928
Düşük	Yok	3,68±0,264 ab	21,95±0,846 ab	78,05±0,846 ab	84,88±1,107
Düşük	Var	3,30±0,091 b	20,51±0,961 ab	79,49±0,961 ab	84,61±0,458
Normal		3,55±0,106	20,96±1,163	79,04±1,163	84,68±0,671
Düşük		3,49±0,145	21,23±0,647	78,77±0,647	84,74±0,572
	Yok	3,52±0,144	20,39±0,751	79,61±0,751	85,09±0,709
	Var	3,53±0,108	21,80±1,058	78,20±1,058	84,34±0,500
P değeri					
AA yoğunluğu		0,734	0,685	0,795	0,947
Enzim		0,956	0,815	0,194	0,405
AA × E		0,028	0,030	0,015	0,594

KM: kuru madde, N: Azot, HP: Ham protein, AA: Amino Asit, E: Enzim

Amino asit yoğunlukları bakımından gruplar arasındaki farklılığın, 30 haftalık deneme genelinde üzerinde durulan yumurta kalite kriterlerine önemli bir etkisi bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Benzer şekilde rasyona proteaz ilavesinin de yumurta sarı rengi, albumen yüksekliği, kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, Haugh birimi ve densite üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Albümen yüksekliği ve Haugh birimi bakımından amino asit yoğunluğu ve enzim ilavesi arasında önemli bir ilişki söz konusudur ( $P<0,05$ ). 30 haftalık üretimin geneline yansıyan bu etki, normal amino asit yoğunluğu + enzim kullanılan grup ile enzim kullanılmayan ve düşük amino asit yoğunluğuna sahip gruplarla benzer değerlerin elde edilmesi şeklinde ortaya çıkmıştır (Çizelge 4).

Farklı amino asit seviyesindeki rasyonlarla beslenen kahverengi yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz ilavesinin 30 haftalık deneme dönemindeki azot (N) bilançosu üzerine etkileri Çizelge 5'te verilmiştir. Dışkı azotu (%), alınan/atılan azot oranı (%), azot sindirilebilirliği (%) ve kuru madde (KM) sindirilebilirliği (%) bakımından gruplar arasında, tek başına enzim ilavesi veya tek başına amino asit yoğunluğuna bağlı farklılık bulunmazken; KM sindirilebilirliği dışında üzerinde durulan tüm özelliklerde amino asit yoğunluğu ve enzim ilavesi arasındaki

interaksiyon önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Dışkı azotu bakımından muamele grupları arasında rasyonun tek başına amino asit yoğunluğu veya proteaz ilavesine bağlı olarak önemli bir farklılık bulunmazken, amino asit yoğunluğu ile enzim ilavesi arasında önemli ( $P<0,05$ ) bir ilişki bulunmuş; normal amino asit yoğunluğu ve enzim ilavesi içeren grup ile düşük amino asit ve enzim ilavesi içeren grup arasında önemli bir farklılık ( $P<0,05$ ) ortaya çıkmıştır. Atılan azot/tüketilen azot oranı bakımından düşük amino asit yoğunluklu rasyonlar arasında enzim kullanımına bağlı bir fark gözlenmemiş; benzer şekilde düşük amino asit yoğunluklu rasyonlar ile normal amino asit yoğunluklu rasyonlar arasında da önemli bir fark bulunmazken; amino asit yoğunluğu ile ilavesi arasında interaksiyon belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). Azot sindirilebilirliği bakımından düşük amino asit yoğunluklu rasyonlar arasında enzim kullanımına bağlı bir fark gözlenmemiş; benzer şekilde düşük amino asit yoğunluklu rasyonlar ile normal amino asit yoğunluklu rasyonlar arasında da önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak normal amino asitli rasyonlar arasında enzim ilave edilmemiş grupta N sindiriminin daha yüksek ( $P<0,05$ ) olduğu belirlenmiştir. Kuru madde sindirilebilirliği bakımından, deneme grupları arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ; Çizelge 5).

## Tartışma

Çizelge 2’de Nick Brown yumurta tavuklarına ait besin maddesi ihtiyaçları ve araştırmadaki rasyon gruplarının besin madde içeriklerinden görülebileceği gibi, düşük AA içerikli rasyonlar, normal sindirilebilir AA seviyelerine göre esansiyel sindirilebilir amino asitlerin %6 düşürülmesi ile oluşturulmuştur. Formülasyon sürecinde, Met, Met+Cys, Lys, Thr, Ile, Val, Trp ve Arg amino asitlerinin minimum seviyelerde uygulanmasına bağlı olarak HP seviyesi sınırlanmamış, araştırma rasyonları sindirilebilir amino asit seviyeleri esas alınarak ideal amino asit konseptinde oluşturulmuştur. Buna bağlı olarak araştırmada kullanılan rasyonların ham protein seviyeleri katalogda belirtilen ham protein ihtiyacının altında kalsa da (%16,7’ye karşılık %14,27) ideal amino asit konseptine göre bu düşüklük üzerinde durulan özellikler bakımından önemli bir fark yaratmamıştır. Bu bulgu, yumurta tavuklarında farklı HP seviyelerinin değerlendirildiği diğer çalışmalarla da uyum halindedir (Novak ve ark., 2006, Perez-Bonilla ve ark., 2012, Santos-Ricalde ve ark., 2013). Buradan hareketle yem besin maddesi içerikleri doğru bir şekilde ölçülebiliyorsa amino asit ve protein seviyelerini % 5-6 daha da aşağı düşürmek performans ve kalite verilerine herhangi bir olumsuz etki yapmadan mümkün olmakta ve rasyonların en maliyetli girdisi olan AA yönünden tasarruf sağlanması da mümkün hale gelmektedir. Bu sonuç ayrıca soya küspesi dışındaki alternatif protein kaynaklarının rasyonlarda kullanım olanaklarının düşünülmesi için önemlidir. Araştırma bulguları bu ekseninde değerlendirilmelidir.

Mevcut çalışmanın bulgularına göre Nick ırkına mensup kahverengi yumurta tavuklarında mısır – soya temelli rasyonlara proteaz ilavesi yumurta verimi (%) ve yumurta üretimi (g/tavuk/gün) bakımından önemli bir fark yaratmamıştır. Bu bulgulara dayanılarak mısır soya temelli rasyonlar ile ideal amino asit konseptine dayalı olarak doğru ve dengeli bir şekilde beslenen yumurta tavuklarına, katalog AA ve % 6 düşük AA yoğunluğunda, proteaz ilavesinin yumurta verimi ve üretimi üzerine etkili olmadığı düşünülebilir. Bu bulgular Jaroni ve ark. (1999), Freitas ve ark. (2000), Novak ve ark. (2007), Gunawardana ve ark. (2009), Abudabos (2011) ve Wen ve ark. (2012)’nin bildirişleriyle uyumaktadır. Bu çalışmada verim bakımından elde edilen verilere bakıldığında, 1. ve 3. gruplara (normal amino asit yoğunluğuna sahip enzimsiz rasyon grubu ile düşük amino asit yoğunluğuna sahip enzim ilaveli rasyon grubu) ait verilerin birbirlerine olan benzerliği; tersi şekilde 2. ve 4. gruplara (normal amino asit yoğunluğuna sahip, enzim ilaveli rasyon grubu ile düşük amino asit yoğunluğuna sahip enzimsiz rasyon grubu) ait verilerin de birbirine benzemesi bu bilgiyi desteklemekte ve deneme genelinde karşılaşılan sonucu açıklamaktadır. Çiftçi ve ark. (1997, 2003)’nin bildirişlerine göre hayvanların ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde formüle edilmiş mısır-soya temelli rasyonlar yerine negatif kontrol durumundaki buğday temelli rasyonlara karma enzim ilavesinin yumurta verimini artırdığı bilinmektedir. Bu çalışmada gerek proteaz ilavesinin gerekse amino asit yoğunluklarının yumurta verimi üzerine tüm deneme geneli (1-30 haftalar) dikkate alındığında önemli bir etkisinin gözlenmemiş olması mevcut amino asit

yoğunluklarının hayvanların ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde olabileceğine işaret etmektedir.

Mevcut çalışmada yumurta ağırlığı üzerine proteaz ilavesi ve amino asit yoğunluğunun önemli bir etkisi bulunmamıştır. Alandaki benzer çalışmalara bakıldığında yumurta tavuğu rasyonlarına enzim ilavesinin yumurta ağırlığı üzerine etkili olmadığı yönündeki bildirişleryaygın olsa da farklı bulgulara da rastlanmaktadır. Freitas ve ark. (2000), Novak ve ark. (2007), Barbosa ve ark. (2016), Vieira ve ark. (2016), rasyonlara proteaz da içeren enzim karması ilavesinin yumurta ağırlığını etkilemediğini bildirirken; Gunawardana ve ark. (2009), 12 haftalık denemenin 3 ve 4. haftaları boyunca yumurta ağırlığının enzim kullanılan gruplarda önemli derecede yüksek olduğunu ancak deneme genelindeki ortalama yumurta ağırlığının enzim varlığından etkilenmediğini bildirmişlerdir. Bu bildirişlerin ve deneme bulgularının aksine Jaroni ve ark. (1999), yumurta ağırlığının farklı hatlar arasında farklılık göstermekle birlikte %8 kırıkkı buğday ve %0,1 enzim (proteaz + ksilanaz) ilavesi yapılan rasyonla beslenen hayvanlarda, mısır-soya küspesi temelli kontrol rasyonuna kıyasla daha gelişmiş olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun, iki olası sebebinden biri rasyona katılan enzim karmasındaki ksilanaz varlığına bağlı olarak buğday içindeki nişasta olmayan polisakaritlerin (NOP) yararlanımının arttığı; ikincisi ise proteaz ilavesinin ilgili rasyondaki amino asitlerin sindirimini iyileştirdiği düşünülebilir. Proteaz yönünden aynı etkinin mevcut çalışmada görülmeişi sebebi Jaroni ve ark. (1999)’un rasyonlarının HP esasında formüle edilmesine karşılık, bizim çalışmamızın rasyonlarının HP seviyesini temel almaksızın ideal amino asit konseptinde hazırlanmış olmasıdır. Antar ve ark. (2004), yumurta tavuklarının yem tüketimini, azami yumurta üretimi için gerekli enerjiyi sağlayacak şekilde düzenlediklerini; bu yem tüketimine bağlı olarak alınan amino asit miktarının yumurta ağırlığı üzerinde belirleyici olduğunu bildirmişlerdir. Deneme rasyonlarının metabolize olabilir enerji (ME) içerikleri Kahverengi Nick ırkının katalog önerilerini karşılayacak şekilde izoenerjistik olarak formüle edildiğinden enerji alımından kaynaklı böyle bir farklılık beklenmemektedir.

Otuz haftalık deneme genelinde yem tüketimi üzerine amino asit yoğunluğu veya enzim ilavesinin etkisi önemsiz bulunmuş olup, bu bulgu rasyona ekzojen enzim ilavesinin kanatlılarda yem tüketimini deyiştirmediğini bildiren çalışmalarla (Bustany ve ark. 1988, Polat ve ark. 1995, Oloffs ve ark. 1998, Freitas ve ark. 2000, Çiftçi ve ark. 2003, Lázaro ve ark. 2003, Abudabos 2011, Wen ve ark. 2012 ve Vieira ve ark. 2016) paralellik göstermektedir. Buna karşılık Santos-Ricalde ve ark. (2013), ksilanaz-amilaz-proteaz karışımından oluşan enzim kokteyli ile yürüttükleri çalışmada özellikle yüksek HP içerikli rasyon grubunda enzim ilavesinin yem tüketimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Söz konusu çalışmada yem tüketimine ilişkin bu deyişme karşılık mevcut çalışmada böyle bir fark gözlenmemesi ekzojen ksilanaz ve amilaz varlığının nişasta ve nişasta olmayan polisakaritlerin (NOP) yararlanımını artırmasına karşılık mevcut çalışmanın bu ekzojen enzimleri içermemesinden kaynaklı olabilir. Benzer şekilde Çiftçi ve ark. (2003), Halle (2003) ve Barbosa ve ark. (2016), mısır, buğday ve soya küspesi ağırlıklı yumurta tavuğu rasyonlarında karma enzim

uygulamasının yem tüketimini azaltırken yemden yararlanmayı iyileştirdiği sonucuna varmışlardır. Bu çalışmadaki gibi ekzojen enzim karmaları yerine yalnızca proteaz enzimi ilavesinin etkilerini inceleyen ender çalışmalardan biri olan Filho ve ark. (2015)'e ait araştırmada, proteaz ilavesinin yem tüketimi üzerine önemli bir etkisi olmadığı ( $P>0,05$ ) bildirilmiştir.

Santos-Ricalde ve ark. (2013), yumurta tavuğu rasyonlarında HP seviyesindeki düşüslere bağlı olarak, hayvanların gerekli TSAA ve lizin seviyelerini sağlayabilmek için yem tüketimlerini artırma eğiliminde olduklarını bildirmiştir. Bu durum mevcut tez çalışması için gerçekleşmemiştir zira rasyonun ideal amino konseptinde ve sindirilebilir amino asit esasına göre formüle edilmesinin bir sonucu olarak HP seviyesinin ayarlanmasına gerek kalmamış, hayvanların ihtiyacı olan TSAA, lizin ve diğer esansiyel amino asitler normal AA yoğunluklu rasyonda, HP seviyesinden bağımsız olarak sağlanmışlardır. Literatürdeki bildirişlerden farklı olarak; farklı amino asit seviyelerine bağlı olarak standart yoğunluklu ve %6 düşük amino asit içeren gruplar arasında 11-14 ve 15-18. haftalar boyunca yem tüketimi bakımından gözlenen farklılığın 30 haftalık denemenin geneline yansımamış olduğu gerçeği, düşük amino asit seviyelerini telafi etmek için hayvanların yem tüketimlerini artırmış olması yönünde yorumlanmasını imkansız kılmaktadır. Yem tüketimine ilişkin olarak gruplar arasında farklılığın çıkmama nedeninin yumurta tavuklarının sindirim sistemlerinin gelişiminin tamamlandığı yaşta olmaları sebebiyle % 6 düşük amino asit seviyesini tolere etmelerinden kaynaklanmış olabileceği sanılmaktadır.

Yem tüketimi bakımından üzerinde durulması gereken bir nokta da Kahverengi Nick ırkına ait belirtilen katalog değerleri ile bu tez çalışmasının elde ettiği değerlerdir. Mevcut çalışmanın rasyonları, 115 g/gün/tavuk yem tüketimi için önerilen katalog değerleri esas alınarak hesaplanmıştır. Rasyon besin maddelerinin hayvanlar tarafından gereksinimlerini karşılayacak düzeyde alınabilmesi için hayvan başına günlük ortalama 115 gram yem tüketilmesi gerekmektedir. Çizelge 3'ten görülebileceği gibi 30 hafalık denemede yem tüketimi ortalaması 106 g/tavuk/gün düzeyinde kalmıştır. Rasyon amino asit yoğunluklarının rasyonların bu bağlamda da dikkate alınması gerekmekte, yumurta tavuğu rasyonlarında besin maddesi yoğunluğunun yem tüketimi ile ilişkilendirilmesi önem arz etmektedir.

Mevcut çalışmanın, kahverengi yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz ilavesinin yemden yararlanma üzerine önemli bir etkisi olmadığı yönündeki bulguları literatürde proteaz içeren enzim karmaları kullanan kimi çalışmalarla (Freitas ve ark. 2000, Abudabos 2011, Wen ve ark. 2012, Barbosa ve ark. 2016) uyum halindeyken; Filho ve ark. (2015), besin maddesine fakir rasyonlarla beslenen yumurta tavuklarının rasyonlarına proteaz ilavesi yapılarak yemden yararlanmanın iyileştirilebildiğini bildirmişlerdir.

Amino asit yoğunlukları bakımından gruplar arasındaki farklılığın, 30 haftalık dönemin tamamında üzerinde durulan yumurta kalite kriterlerine önemli bir etkisi bulunmamıştır. Farklılık bulunmama nedeninin tavukların gereksinim duydukları kalsiyum ve fosforun her bir deneme grubunda yeterince bulunmasından kaynaklandığı sanılmaktadır. Ca ve P dışında bir diğer önemli ve bu tez

çalışması yönünden anlamlı faktör de amino asit yoğunluklarıdır. Yumurta kabuğu kalsiyum kristalleri oluşumlarına bir protein matriksine eklenerek başladıklarından (Mazzuco ve Bertechini 2014) düşük rasyon proteini / amino asit seviyelerinin bu matriksi değiştirerek kristal yapısını ve yumurta kabuk kalitesini etkileyebileceği düşünülebilir. Keza Novak ve ark. (2006) özellikle TSAA olmak üzere esansiyel amino asitlerin kabuk gelişimi için elzem olduğunu bildirmişlerdir. Khajali ve ark. (2008) ve daha yakın zamanda Ghasemi ve ark. (2014), yeterli lizin ve TSAA'nın sağlanması halinde rasyon HP seviyesindeki düşüslerin kabuk kalitesini etkilemediğini bildirmişlerdir. O halde, bizim çalışmamızda değerlendirilen rasyon grupları içinde önerilen normal amino asit yoğunluğu ile %6 düşük formüle edilen amino asit yoğunluğuna sahip gruplar arasında kabuk kalitesi bakımından önemli düzeyde yetersizlik oluşturmadığı sonucuna varılabilir.

Benzer şekilde rasyona proteaz ilavesinin de Haugh birimi, ak yüksekliği, sarı rengi, kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, ve özgül ağırlık üzerinde önemli bir etkisi gözlenmeyişi mevcut amino asit seviyelerinin, %6 düşük haliyle bile yeterli olabileceği izlenimini yaratmaktadır.

Elde edilen bulgular literatür ile karşılaştırıldığında genel olarak uyumludur. Bustany ve Elwinger (1988), Benabdejelil ve Arboui (1994), Kralik ve ark. (1997), Lima ve ark. (2012), Filho ve ark. (2015) ve Vieira ve ark. (2016) yumurta tavuğu rasyonlarına proteaz içeren karma enzim ilavesinin yumurta kalite kriterlerine önemli etkisi olmadığını bildirirken, Jaroni ve ark. (1999) ve Abudabos (2011), yumurta kütlelerinin proteaz içeren enzim karmalarının ilave edilmesinden etkilendiğini ancak özgül ağırlık üzerine enzimlerin bir etkisi olmadığını; Gunawardana ve ark. (2009), yumurta sarı bileşenleri üzerinde rasyon proteini ve enerji seviyeleri ile enzim kullanımı arasında yüksek bir interaksiyon olduğunu bildirmiştir.

Deneme boyunca canlı ağırlık bakımından tüm gruplarda 263 - 290 g civarında bir azalma görülmüş, denemenin 2. döneminde canlı ağırlığın standart amino asit yoğunluğuna sahip rasyonlar lehine değişme eğiliminde olmuş ancak bu istatistiksel olarak önemli bir fark oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). Bu bulgular Gunawardana ve ark. (2009)'un bildirişine göre enzim kullanımının yumurta tavuklarında canlı ağırlığı artırdığı yönündeki bilgiye ilk bakışta ters düşse de, söz konusu araştırmacıların farklı rasyon enerjilerini de denemeye dahil ettiklerini göz önüne almak gereklidir. Mevcut tez çalışmasında rasyonlar izoenerjistik olarak oluşturulmuş ve enzim ilavesinin veya amino asit yoğunluğunun farklı amino asit yoğunluğunda canlı ağırlık üzerine bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 5'ten görülebileceği gibi % KM'deki dışkı azotu, atılan N / tüketilen N oranı ve N sindirilebilirliği üzerine rasyon amino asit yoğunluğu ile proteaz ilavesi arasında önemli bir ilişki gözlenmiştir. Buna göre atılan N / tüketilen N oranlarına ve azot sindirilebilirliğine bakıldığında, pozitif kontrol grubuna proteaz ilavesinin azot sindirilebilirliğini geriletirerek azot atılımını artırdığı gözlenmektedir. Bu sonuçlar beklenenin dışında gelişmiştir. Nitekim literatürde gerek HP seviyesinin düşürülerek kristal amino asit kullanımı ile (Summers 1993; Blair ve ark. 1999; Latshaw ve Zhao 2011), gerekse ekzojen enzim kullanımı ile (Pessoa ve ark. 2016) yumurta

tavuklarında dışkıyla azot atılımının düştüğü bildirilmektedir. Mevcut çalışmada elde edilen bu sonuç için olası bir açıklama, rasyonda fitaz enzimi bulunmamasına bağlı olarak yemlerdeki fitat varlığının azot moleküllerini bağlayarak sindirilebilirliği azaltmış olması olabilir. Fitatın amino asitlerle, küçük peptitlerle ve protein molekülleri ile sindirim kanalında kompleksler oluşturarak, kanatlılar tarafından bu bileşiklerin sindirilebilirliklerini düşürdüğü bilinmektedir (Selle ve ark. 2000). Buna ilaveten gene fitatın ince bağırsaklardan amino asit geçişini hızlandırarak kanatlılarda daha yüksek endojen amino asit atılımı sağladığı da bildirilmektedir (Cowieson ve ark. 2004). Bu bilgi, ekzojen enzim kullanımının bağırsak viskozitesini düşürmesi (Bedford ve Schulze 1998) ile birlikte dikkate alınınca azotlu bileşiklerin bağırsaktan geçiş hızının iyice artmış olabileceği düşünülebilir. Bu bulgular, bu çalışmada kullanılan ticari proteaz olan Ronozyme ProAct'ı ekzojen fitaz ile birlikte kullanan Yusrizal ve ark. (2013)'ün bildirişi ile uyumludur.

Bedford (2000), kanatlı rasyonlarında ekzojen enzim kullanımının genel olarak besin maddesi yararlanımını iyileştirdiğini, dışkı kuru maddesini artırdığını ve anti-besinsel faktörleri kısmen ya da tamamen bertaraf ettiğini bildirmiştir. Bu tez çalışmasının sonuçları bu bildirişey uymamaktadır. Ancak gene aynı araştırmacı, besin maddesi ihtiyaçları karşılanan yumurta tavuklarının rasyonlarına yapılacak enzim ilavesinin, ilgili enzimin etkinliğini azaltarak gerçek potansiyelini göstermesine engel olduğunun altını çizmektedir (Bedford 2000). Deneme genelinde elde edilen bulgular bu bilgi ışığında değerlendirilirse, rasyona proteaz ilavesinin performans ve yumurta kalite kriterleri üzerinde önemli bir etki oluşturmaması, rasyon besin maddelerinin hayvanların ihtiyaçları seviyesinde veya üzerinde olduğunu düşündürmektedir. Rasyon amino asit yoğunluğunun % 6 düşürüldüğü gruplarda bile besin maddelerinin yeterli olmuş gibi görünmesi, Kahverengi Nick ırkına ait katalog önerilerinin yüksek bir emniyet payına sahip olduğu, bu nedenle % 6 düşük amino asit yoğunluklarının bile hayvanların gerçek ihtiyaçlarını karşıladığı veya üzerinde kaldığı anlamına gelebileceği düşünülmektedir.

## Sonuç

Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar yukarıdaki tartışmalar ışığı altında özetlenecek olursa;

Mısır-soya küspesi temelli rasyonlara proteaz ilavesinin kahverengi yumurta tavuklarında performans ve yumurta kalite kriterleri üzerine önemli bir farklılığa yol açmadığı gözlenmiş olup buradan hareketle besin maddelerince yeterli ve dengeli hazırlanmış mısır-soya küspesi temelli rasyonlara proteaz ilavesinin üretim bakımından faydalı olması olasılığının düşük olduğu düşünülebilir. Deneme bulgularına bakılarak, ideal AA profili ve sindirilebilir esansiyel amino asit esasına göre hazırlanan rasyonlarla beslenen Nick Brown kahverengi yumurta tavukları için önerilen amino asit seviyelerinin % 6 oranında düşürülmesi sonucu performans ve yumurta kalitesinde herhangi bir olumsuzluk ortaya çıkmadığı, proteaz ilavesinin ise bir katkı sağlamadığı sonucuna varılmıştır. Sindirilebilir amino asit yoğunluklarının önerilen değerlere göre %6 düşürüldüğünde dahi üzerinde

durulan birçok özellik bakımından önemli bir fark yaratmamış olmasından hareketle Kahverengi Nick ırkına ait besin maddesi önerilerinin emniyet payının yüksek tutularak gerçek ihtiyaçların üzerinde olduğu sonucuna varılabilir. Proteaz ilavesinin veya amino asit yoğunluğunun mevcut çalışmada azot sindirimine ve azot atılımı üzerine bireysel etkileri önemsiz bulunmuşsa da, bu iki faktör arasındaki ilişkinin önemli olmasına bağlı olarak biyolojik değeri daha düşük, sindirimi daha zor protein kaynakları ile oluşturulacak rasyonlarda proteaz kullanımının ve/veya mısır-soya küspesi temelli yumurta tavuğu rasyonlarında proteaz enzimi ile birlikte fitaz enzimi kullanımının etkilerinin daha kapsamlı araştırılması yararlı olabilir.

## Kaynaklar

- Abudabos MA. 2011. Enzyme supplementation of layer diets containing wheat middlings. *Avian Biology Research*, 4(3): 110–117. doi: 10.3184/175815511X13142802499814
- Akyıldız AR. 1984. *Yemler Bilgisi* Laboratuvar Klavuzu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 895, Ankara.
- Anonymous 2012. H&N International. *Brown Nick Management Guide*. ([http://www.hn-int.com/eng-wAssets/docs/managementguides/001MG-Brown-Nick\\_englisch\\_final.pdf](http://www.hn-int.com/eng-wAssets/docs/managementguides/001MG-Brown-Nick_englisch_final.pdf). Erişim tarihi: 12 Eylül 2014).
- Antar RS, Harms RH, Shivazad M, Faria DE, Russell GB. 2004. Performance of commercial laying hens when six percent corn oil is added to the diet at various ages and with different levels of tryptophan and protein. *Poultry Science*, 83:3, p. 447- 455.
- Barbosa SA, Corrêa GSS, Vieira BS, Silva GMM, Gonzalez-Esquerria R, Araujo RB. 2016. Effect of protease supplementation on performance, egg quality and intestinal morphology of layers. *International Production and Processing Expo – IPPE, Atlanta – GA – USA*, p.98.
- Bedford MR, and Schulze H. 1998. Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutritional Research Review* 11, 91–114.
- Bedford MR. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology* 86 (2000)
- Benabdejelil K, and Arbaoui MI. 1994. Effect of enzyme supplementation of barleybased diets on hen performance and egg quality. *Animal. Feed Science and Technolgy*, 48: 325-334.
- Blair R, Jacob JP, Ibrahim S, and Wang P. 1999. A quantitative assessment of reduced protein diets and supplements to improve nitrogen utilization. *Journal of Applied Poultry Research*, 8: 25-47.
- Bustany ZA ve Elwinger K. 1988. Whole grains, unprocessed rapeseed and bglucanase in diets for laying hens. *Swedish Journal of Agriculture Research*, 18: 31-40.
- Correa JS, Franco LS, Hernandez MC, Colli MC, and Ricalde RS. 2007. Effect of dietary energy and sulphur amino acids level on egg production traits in the tropics. *Journal of Animal Veterinary Advancements*, 6: 1209-1213.
- Cowieson, AJ, and Ravindran V. 2008. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: Growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. *British Poultry Science*, 49(1): 37-44
- Cowieson AJ, Acamovic T, Bedford MR. 2004. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science*; 45:101-108.
- Cowieson AJ, and Adeola O. 2005. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poultry Science*, 84: 1860-1867.



- Csuka J, and Ledec M. 1981. Egg quality evaluation by selected physical markers. *Rocz Nauk Zoot*; 8:45-58.
- Çiftçi İ, Yenice E, Gökçeyrek D, ve Öztürk E. 1997 Arpa ve Buğday içeren tavuk yemlerinde enzim kullanımı YUTAV bildiriler s:199-211
- Çiftçi İ, Yenice E, Gökçeyrek D, and Öztürk E. 2003. Effects of energy level and enzyme supplementation in wheat-based layer diets on hen performance and egg quality. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science*, 53:113-119.
- Eisen EJ, Bohren BB, McKean HE. 1962. The haugh unit as a measure of egg albumen quality. *Poultry Science*, 41:1461-1468.
- Filho JAV, Geraldo A, Machado LC, Brito JA, Bertechini AG, Murakami, E.S.F., 2015. Effect of protease supplementation on production performance of laying hens. *Acta Scientiarum. Maringá*, v. 37, n. 1, p. 29-33.
- Freitas ER, Fuentes MFF, Espíndola GB. 2000. Effect of the Enzyme Supplementation of Corn/Soybean Meal Based Diets on the Performance of Commercial Laying Hens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(4):1103-1109.
- Ghasemi R, Toriki M, Ghasemi HA. 2014. Effects of dietary crude protein and electrolyte balance on production parameters and blood biochemicals of laying hens under tropical summer condition. *Tropical Animal Health and Production*, 46:5, 717-723
- Gunawardana P, Roland DA, Bryant MM. 2009. Effect of dietary energy, protein, and a versatile enzyme on hen performance, egg solids, egg composition, and egg quality of Hy-Line W-36 hens during second cycle, phase two. *Journal of Applied Poultry Research*, 18 :43–53 doi: 10.3382/japr.2008-00047
- Halle I. 2003. Effect of enzymes hydrolyzing non-starch polysaccharides (NSP) as feed additives in wheat-based laying hen diets. *Archiv für Geflügelkunde* 67 (6), 242-248
- Hahn-Didde D, and Purdum SE. 2014. The effects of an enzyme complex in moderate and low nutrient-dense diets with dried distillers grains with solubles in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 23 :23–33
- Jaroni D, Scheideler SE, Beck M, Wyatt C. 1999. The Effect of Dietary Wheat Middlings and Enzyme Supplementation. 1. Late Egg Production Efficiency, Egg Yields, and Egg Composition in Two Strains of Leghorn Hens. *Poultry Science* 78:841–847
- Junqueira OM, Laurentiz AC, Silva FR, Rodrigues EA, and Casartelli EMC. 2006. Effects of energy and protein levels on egg quality and performance of laying hens at early second production cycle. *Journal of Applied Poultry Research*, 15: 110-115.
- Khajali F, Khoshouie EA, Dehkordi SK, and Hematian MH. 2008. Production performance and egg quality of Hy-line W36 laying hens fed reduced-protein diets at a constant total sulfur amino acid: Lysine ratio. *Journal of Applied Poultry Research*, 17: 390-397.
- Kralik G, Petricevic A, Izivkic M, and Skrtic Z. 1997. Preliminary results in the use of Polizyme BX in feeding laying hens. *Poljoprivredni Fakultet Sveucilista, J.J. Strossmayera, Osijek, Hrvastka, Croatia. Krmiva.*, 39: 2, 69-75; 12 ref.
- Latshaw JD, and Zhao L. 2011. Dietary protein effects on hen performance and nitrogen excretion. *Poultry Science*, 90: 99-106.
- Lázaro R, García M, Aranibar MJ, and Mateos GG. 2003. Effect of enzyme addition to wheat- barley- and rye-based diets on nutrient digestibility and performance of laying hens. *British Poultry Science* 44 (2), 256-265
- Lima MR, Costa FGP, Goulart CC, Pinheiro SG, Barbaso de Souza R, Morais SAN, Rima LC. 2012. Nutritional reduction of protein and usage of enzyme in the diet of light layers. *Revista Brasileira Zootecnia.*, 41:9, .2055-2063.
- Mazzuco H, Bertechini AG. 2014 Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, 38:1, 7-14.
- Novak C, Yakout HM, and Scheideler SE. 2006. The effect of dietary protein level and total sulfur amino acid: Lysine ratio on egg production parameters and egg yield in hy-line W-98 hens. *Poultry Science.*, 85: 2195-2206.
- Novak C, Yakout HM, and Remus J. 2007. Response to varying dietary energy and protein with or without enzyme supplementation on growth and performance of Leghorns: Growing period. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 481-493.
- Oloffs K, Jeroch H, and Schöner FJ. 1998. The efficiency of enzyme hydrolyzing non-starch polysaccharides (NSP) as feed additives to layer rations on barley-rye and wheat-rye basis. *Journal of Animal Physiology ve Animal Nutrition* 78 (4/5), 178-195
- Pérez-Bonilla A, Jabbour C, Frikha M, Mirzaie S, Garcia J, Mateos GG. 2012. Effect of crude protein and fat content of diet on productive performance and egg quality traits of brown egg-laying hens with different initial body weight. *Poultry Science*, Volume 91, Issue 6, Pages 1400–1405.
- Pessoa GBS, Ribeiro Junior V, Albino LFT, Araujo WAG, Silva DL, Hannas MI, Rostagno HS. 2016. Enzyme Complex Added to Broiler Diets: Effects on Performance, Metabolizable Energy Content, and Nitrogen and Phosphorus Balance. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.18 / n.3 / 467-474.
- Polat C, Akyürek H, Konyalı A, and Senköylü N. 1995. WPSAProceedings. 10th European Symposium on Poultry Nutrition (15-19 October Antalya Türkiye), 360-362
- Ravindran V, Selle PH, Bryden WL. 1999. Effects of phytase supplementation, individually and in combination, on the nutritive value of wheat and barley. *Poult. Sci.* 78, 1588–1595.
- Santos-Ricalde R, Sarmiento-Franco L, Segura-Correa J. 2013. Effect of three protein levels and an enzyme blend on egg quality of laying hens. *Pakistan Journal of Biological Science*, 16(9): 1056-1060.
- Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA, Bryde WL. 2000. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. *Nutrition Research Reviews*; 13:255-278.
- Simbaya J, Slominski BA, Guenter W, Morgan A, ve Campbell LD. 1996. The effects of protease and carbohydrase supplementation on the nutritive value of canola meal for poultry: In vitro and in vivo studies. *Animal Feed Science And Technology*, 61: 219-234. Doi: 10.1016/0377-8401(95)00939-6
- Summers JD. 1993. Reducing nitrogen excretion of the laying hen by feeding lower crude protein diets. *Poultry Science* 72: 1473-1478
- Vieira BS, Barbosa SAPV, Tavares JMN, Beloli IGC, Silva GMM, Neto HRL, Caramori Júnior JG, Corrêa GSS. 2016. Phytase and protease supplementation for laying hens in peak egg production. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 37:6, 4285-4294. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n6p4285
- Wen C, Wang LC, Zhou YM, Jiang ZY, Wang T. 2012. Effect of enzyme preparation on egg production, nutrient retention, digestive enzyme activities and pancreatic enzyme messenger RNA expression of late-phase laying hens. *Animal Feed Science and Technology* 172: 180–186.
- Yusrizal Y, Angel R, Adrizal A, Wanto BE, Fakhri S, Yatno Y. 2013. Feeding native laying hens diets containing palm kernel meal with or without enzyme supplementations. 2. Excreta nitrogen, ammonia, and microbial counts. *Journal of Applied Poultry Research*, 22 :269–278