



복합생균제가 육계의 생산성, 혈액생화학성분과 면역지표, 소화효소 활성도, 분중 미생물 및 유해가스 발생에 미치는 영향

김민정¹ · 전동경¹ · 안호성¹ · 윤일규¹ · 문은서¹ · 이재현² · 임용³ · 장인석^{4†}

¹경남과학기술대학교 동물생명과학과 학생, ²고려산업 기술연구팀 부장,
³동의대학교 임상병리학과 교수, ⁴경남과학기술대학교 동물생명과학과 교수

Effects of Probiotic Complex on Performance, Blood Biochemical and Immune Parameters, Digestive Enzyme Activity, Fecal Microbial Population and Noxious Gas Emission in Broiler Chicks

Min-Jeong Kim¹, Dong-Gyung Jeon¹, Ho-Sung Ahn¹, Il-Gyu Yoon¹,
 Eun-Seo Moon¹, Chai-Hyun Lee², Yong Lim³ and In-Surk Jang^{4†}

¹Student, Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Republic of Korea

²Head, Technical Research Team, Hafeed, Korea Industrial C., Ltd, Busan 46978, Republic of Korea

³Professor, Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Republic of Korea

⁴Professor, Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Republic of Korea

ABSTRACT This study examined the effects of a probiotic complex (PC) containing *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, organ weight, immune parameters, fecal microbial count, and noxious odor in broiler chicks. A total of 216 birds (4-day-old) were fed a basal diet (CON) and a diet supplemented with 0.25% (PC1) and 0.5% (PC2) of PC until 35 days of age. No difference in body weight, feed intake, and FCR was observed among the groups. The intestinal mucosal weight of the PC1 group was greater than that of the CON group without affecting weights of the other organs. Intestinal secretory immunoglobulin A (sIgA) levels in the PC2 group increased significantly ($P<0.05$) compared with that in the CON group. The PC2 group also had a strong tendency for elevated blood sIgA levels. Dietary PC did not affect the level of interleukin-1 β in the blood and mucosal tissues or alter maltase, sucrase, and leucine aminopeptidase activities in the intestinal mucosa. The PC2 group had higher colony-forming units (cfu) for *L. plantarum* and *S. cerevisiae*, but lower cfu for *E. coli* than those in the CON group. Compared to the CON diet, the PC2 diet resulted in a decreased H₂S concentration and a tendency toward decreased CH₃SH concentration. In conclusion, a 0.5% PC diet showed increased sIgA and desirable microbial population, and decreased noxious odor in the feces, suggesting that PC could be applied as an environmentally friendly feed additive in broiler chicks.

(Key words: probiotic complex, performance, immune parameters, microbial count, noxious gas)

서 론

가축 생산성 향상과 질병예방 목적으로 사용되는 사료첨가제는 항생제를 포함한 생균제, 유기산제, 식물추출물 등이 있다(Huyghebaert et al., 2011). 항생제는 가축 생산성 측면에서 가장 긍정적인 효과에도 불구하고, 항생제 내성 문제

(Huyghebaert et al., 2011)로 2011년 7월부터 국내에서 사료첨가용 항생제 사용이 금지되었다. 이와 같은 시대적 흐름에 따라 축산식품 소비자는 위생적이고 안전한 식품의 생산을 요구하며 무항생제 및 친환경축산물을 선호하고 있다. 따라서 소비자와 생산자 모두를 위해 사료첨가용 항생제를 대체할 수 있는 안전성이 확보된 물질의 연구 개발은 지속 가능

[†] To whom correspondence should be addressed : isjang@gntech.ac.kr

한 축산업을 위해 가장 시급한 분야이다.

사료첨가제로서 항생제 사용이 금지된 이후 주목받고 있는 생균제(probiotics, direct-fed microbials)는 시대적 요구에 적합한 친환경 소재로서 국내에서 가장 선호되고 있다. 현재까지의 연구에 의하면 생균제의 작용기전과 효과는 아직 완전히 구명되지는 않았지만, 국내에서 사료첨가제 중 가장 많이 사용되고 있다. 생균제 효과는 생균제 종류, 첨가수준, 사육환경 등에 따라 다르지만(Huyghebaert et al, 2011), 소화관 내 병원성 미생물로부터 숙주를 방어하는 것이다(Nurmi and Rantala, 1973). 유익 미생물이 장내에 다량 존재할 경우, *Salmonella*, *Clostridium*, *E. coli* 등 유해 미생물의 정착을 억제하여 독소생성 저하, 면역작용 증진 및 질병 방어작용 등과 같은 광범위한 효과를 나타낸다고 보고되었다(Fuller, 1989; Nava et al., 2005; Shang et al., 2016). 또한, 생균제를 가축에 급여하면 분에서 NH_3 와 H_2S 의 발생량이 현저히 감소되어 축사의 환경개선제로도 사용될 수 있다(Ko et al., 2003; O'Shea et al., 2012). 이러한 생균제의 효과에도 불구하고, 생균제를 사용한 연구에서 그 결과들은 상당한 차이를 보인다(Huyghebaert et al., 2011). 육계에 생균제를 급여한 연구에서 성장과 사료 이용성이 현저히 개선되었다는 결과들(Jin et al., 1998; Ko et al., 2003; Wang et al., 2016)과, 육계의 성장 및 사료 이용성이 개선되지 않았다는 보고들(Awad et al., 2009; Bai et al., 2013; Lee et al., 2014)이 있다.

이러한 이유로서 균주의 숙주 특이성(host specificity), 미생물 균주 종류, 사료 구성성분, 첨가방법 및 환경요인 등이 있다(Jin et al., 1998). 가장 널리 사용되는 *Lactobacillus*(L.)는 비아포 형성균으로 위산과 담즙에 대한 저항성 및 소장의 가수분해 효소들로부터 살아남을 수 있다(Kabir, 2009). 포자형성균인 *Bacillus*(B.) *subtilis*는 장관 내 정착률이 높고, 유산균의 정착을 도와주어 동물의 생산성과 면역을 증가시키는 것으로 보고되었다(Gadde et al., 2017). Hosoi 등(1999)은 쥐에 *B. subtilis*를 급여하였을 때 분내 *L. spp*의 정착률을 높이고 *L. murinus*와 *B. subtilis*를 함께 체외(in vitro)에서 배양하였을 때 *L. murinus*의 성장이 증가한다는 결과를 보고하여 *B. subtilis*가 유산균의 성장에 큰 영향을 미치는 사실을 증명하였다. 이와 같은 연구결과들로 보아 단일 종류의 생균제보다는 효과가 검증된 다양한 종류의 복합생균제를 육계에 급여할 경우, 보다 안정적인 효과는 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 연구는 *L. plantarum*, *B. subtilis* 및 *Saccharomyces cerevisiae* 등이 함유된 복합생균제를 육계에 수준별(0%, 0.25% 및 0.5%)로 급여 시 생산성, 소화효소 활성도, 혈액

생화학성분과 면역지표, 분중의 미생물 균총과 유해가스 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물, 시험설계 및 사양관리

Ross종(308)을 구입하여 3일 동안 케이지 사육환경에 적응시키고, 4일령에 개체별 체중을 측정하여 평균 체중에 가까운 216수를 선별하여 실험에 공시하였다. 시험군은 대조군(CON), 복합생균제 0.25%(PC1) 및 복합생균제 0.5%(PC2) 등 3군으로 각 처리군 당 72수를 9 반복(8수/케이지)으로 완전임의 배치하였다. 시험 기간은 4일령부터 35일령까지 총 31일 동안 케이지 사육하였다. 시험사료는 한국가축사양표준(가급, 2012)에 기초하여 옥수수, 대두박 위주로 배합한 것으로 육계 전기사료(4~10일령), 중기(11~21일령) 및 후기(22~35일령)로 구분하여 복합생균제를 시험설계의 비율(%)에 따라 혼합하였다(Table 1). 시험에 사용된 생균제는 *L. plantarium*, *B. subtilis* 및 *Saccharomyces cerevisiae* 등이 10^6 cfu kg^{-1} 이상 함유된 복합생균제(D&A, Haman, Korea)를 사용하였다. 사양관리 방법으로서 닭이 충분히 먹을 수 있는 사료를 자유급이하고, 음수는 자동 급수기로서 급여하였다. 점등관리는 시험 동안 23시간 점등하고, 계사 온도는 33℃에서 22℃까지 육계 사육실 온도관리 프로그램에 따라 조절하였다. 체중은 0, 3, 21 및 35일령, 사료 섭취량은 21일령 및 35일령에 조사하여 증체량과 사료요구율을 계산하였다. 기타 사양 관리는 경남과학기술대학교 동물사육장의 사양관리 방법에 준하여 실시되었다. 본 연구는 동물실험윤리위원회의 사전 승인(2019-13)을 받고, 이의 규정에 준수하여 동물실험을 실시하였다.

2. 시험분석 샘플 채취 및 분석방법

1) 혈액, 장기 및 분 채취

사양시험 종료 후 처리군당 평균 체중에 가까운 6~8수를 선별하여 체중을 측정하고 에테르 마취 후 경정맥을 절개하여 sodium heparin이 함유된 진공 시험관에 채혈하였다. 혈액 생화학적 성분과 면역지표 분석을 위해 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리한 혈장을 -70℃에 냉동 보관하였다. 이어서 복강을 절개하여 간, 소장, 비장 등을 채취하여 무게를 측정하고 -70℃에 분석 시까지 보관하였다. 미생물 균수(colony forming unit; cfu)와 가스 발생량을 분석하기 위하여 신선한 분 300 g을 채취하여 -70℃에 냉동 보관하였다.

Table 1. Composition of basal diet for broilers (as-fed basis)

Items	Starter	Grower	Finisher
Ingredients (%)			
Yellow corn	34.88	40.28	35.88
Wheat	15.00	15.00	23.00
Wheat flour	2.00	2.00	2.00
Tallow	5.05	3.63	3.15
Rice bran	-	1.00	1.00
Corn gluten meal (60%)	0.63	3.00	1.13
Soybean meal (45%)	29.50	19.38	12.75
Rapeseed meal (37%)	1.00	1.00	1.50
Dried distiller's grains	5.00	7.00	12.00
Meat meal (70%)	3.00	4.00	4.50
Salt	0.20	0.20	0.23
Limestone	1.23	1.15	1.00
Monocalcium phosphate	1.08	1.05	0.63
L-Lysine-HCL (50%)	0.65	0.73	0.73
DL-Methionine (99%)	0.43	0.30	0.25
L-Threonine (99%)	0.18	0.10	0.13
Broiler premix ¹	0.20	0.20	0.15
Total	100	100	100
Calculated composition			
MEn (kcal/kg)	3.10	3.15	3.20
Crude protein (%)	22.00	20.00	18.50
Calcium (%)	0.80	0.75	0.70
Phosphorus (%)	1.00	0.90	0.90
Methionine (%)	0.70	0.65	0.60

¹ Provided per kilogram of diet: vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D₃, 2,000,000 IU; vitamin E, 30,000 IU; vitamin K₃, 1,500 mg; vitamin B₁, 2,000 mg; vitamin B₂, 7,500 mg; vitamin B₆, 3,000 mg; vitamin B₁₂, 20 mg; niacin, 50,000 mg; pantothen, 10,000 mg; folic acid, 1,000 mg; biotin, 50 mg; FeSO₄ · 7H₂O, 70,000 mg; CuSO₄, 250 mg; CuSO₄ · H₂O, 24,000 mg; MnSO₄ · H₂O, 70,000 mg; ZnSO₄ · H₂O, 50,000 mg; Ca(IO₃)₂ · H₂O, 800 mg; Na₂SeO₃ · 5H₂O, 200 mg.

2) 소장 점막세포 채취

소장은 십이지장에서 결장부위까지 전체를 채취하여 길이

를 측정하였다. 그 후 소장 전반부(십이지장-맹장부위)를 절개한 후 생리식염수로 3회 연속으로 세척하여 내용물을 제거하고 grass slide를 이용하여 점막세포를 분리하였다. 다시 일정한 생리식염수를 혼합하여 5,000 rpm에서 원심분리(Vision, VS-15,000 CF)하여 점막세포를 세척하고, 무게를 측정한 후 -70℃에서 냉동 보관하였다.

3) 혈액 생화학적 성분 및 면역 지표 분석

혈중 생화학적 성분 중 glucose, total protein, triglyceride, total cholesterol, aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT) 등은 자동혈액생화학분석기(Mindray, BS-120, Mindry Bio Medical Electronics Co., Shnzhen, China)로서 분석하였다. 혈청과 소장점막에서 분비형 면역글로블린 A(sIgA) 분석은 Chicken IgA(Abcam, ab Cat No. 157691 ELISA Sandwich quantitative assay kit)를 이용하여 실시되었다. 소장 점막세포는 조직 1 g을 PBS 4 mL를 넣고 grind homogenizer로서 1분간 동안 균질화한 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상청액을 분석에 사용하였다. 친염증 사이토카인으로 Chicken IL-1β(R&D System, Cat: NO MBS 454453)는 ELISA Sandwich quantitative assay kit 방법으로 분석하였다. sIgA와 IL1-β 항체 발색반응은 ELISA reader(V_{max}, Molecular Device, CA, USA) 450 nm에서 측정하였다.

4) 소장 점막세포의 소화효소 활성도 분석

소장 점막세포는 mannitol buffer(150 mM mannitol, 10 mM Tris base, 30 mM succinate, 5 mM K₂HPO₄; pH 7.4)를 적정비율로 혼합하여 grind homogenizer로서 1분간 균질화하였다. 소장 점막세포막의 효소를 분리하기 위해 2% triton X-100을 혼합한 조직을 실온에서 1시간 방치한 후 4℃, 5,000 rpm에서 원심분리한 상청액에서 효소활성도를 측정하였다. 이당류 소화효소인 maltase와 sucrase 활성도는 Dahlgvist (1968)의 방법을 변형하여 ELISA reader를 이용하여 분석하였다. 최종 분해산물인 glucose는 Sigma glucose assay kit로서 450 nm에서 측정하였다. Leucine aminopeptidase(LAP) 활성도는 Gal-Garber and Uni(2000)의 방법을 변형한 것으로 leucine p-nitroaniline를 기질로 사용하여 ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 측정하였다. 각 조직의 단백질 분석은 BCA 방법(Pierce BCA protein, Assay Kit 23225)으로 570 nm에서 ELISA reader로서 측정하였다. 조사한 모든 효소의 특이적 활성도(specific activity)는 전체 활성도에서 단백질 mg 당 농도로 나누어 표시하였다.

5) 분중 미생물 균총 집락수(cfu) 조사

냉동 보관된 분 1 g을 멸균 생리식염수에 현탁하여 homogenizer로 균질화시킨 후 희석하여 생균수 측정용 시료로 사용하였다. 시료는 멸균수로서 10배씩 연속적 희석방법(ten-fold serial dilution method)으로 내용물 1 g에 함유된 균의 집락수를 colony forming unit(cfu)로 계산하였다. 선택한 배지 및 배양조건으로서 *Lactobacilli*는 MRS agar(DIFCO, KS, USA)를 이용하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후 집락 숫자를 log₁₀로 전환하여 cfu를 계산하였다. *B. subtilis*는 Tryptic Soy Broth(Difco, Lab, USA)에서 24시간 배양(37°C)한 후 생성된 집락을 조사하여 log₁₀로 전환하였다. *Saccharomyces cerevisiae*는 YPD 배지를 이용하여 24시간 배양 후 생성된 집락의 숫자를 log₁₀로 전환하여 cfu를 계산하였다. *E. coli*는 MacConkey agar(DIFCO, KS, USA)에서 24시간 배양한 후 형성되는 집락의 숫자를 log₁₀로 전환하여 cfu를 계산하였다.

6) 분중 유해가스 발생량 측정

사양시험 28일째 육계가 일정 기간(12시간) 배설한 분중 황화수소(H₂S) 및 mercapane(CH₃SH) 가스 농도를 측정하기 위해 시험군당 8 반복으로 200 g씩 수거하여 진공 폴리비닐 봉지(Tedlar bag, 2 L)에 밀폐하였다. 밀폐 후 24시간 동안 37°C에서 배양기에서 배양을 시킨 후 가스포집기(Gastec GV-100S, Japan)를 이용하여 테트라 백의 콧을 통

해 1분간 흡입하여 H₂S 및 mercaptane 가스 농도를 각각 측정하였다.

3. 통계처리

복합생균제 급여에 따른 육계 생산성, 혈액 생화학성분과 면역 지표, 소화효소 활성도, 미생물 총균수(cfu) 및 가스 발생량은 SAS package program(SAS, 2004)을 이용하여 General Linear Model(GLM) Procedure에 따라 유의성을 검정하고, 유의차가 인정될 때 Tukey 방법에 따른 95% 수준에서 다중 검정을 실시하였다. 모든 자료는 평균±표준편차로 표기하였다.

결 과

1. 육계 생산성 및 장기 무게

복합생균제 급여(0.25% 및 0.5%)에 따른 육계의 사양 성적은 Table 2에 제시하였다. 육계전기(4~21일령) 성적은 모든 군에서 비슷한 수준의 체중, 증체, 사료섭취량 및 사료요구율을 보였다. 육계후기(22~35일령)의 성적 역시 대조군과 복합생균제 급여군 간에 체중 등 모든 생산성 지표에서 통계적 차이는 없었다. 전 사육 기간(4~35일령)의 사양 성적을 살펴보면 대조군과 복합생균제 급여군 간에 체중 및 사료 요구율 등에서 유의적 차이가 없었지만 0.5% 복합생균제 급여군(PC2)에서 증체(1.7%)와 사료요구율(1.5%)이 다소 개선되

Table 2. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on growth performance, feed intake and feed conversion ratio(FCR) in broiler chicks

Item	Diets ¹		
	CON	PC1	PC2
Initial BW	86.68±0.45	87.42±0.67	87.08±0.78
4~21 days			
BW	1,005.87±51.06	988.03±27.71	998.67±42.99
Gain	919.08±50.70	900.61±27.56	911.43±42.71
Feed intake	1,193.01±43.62	1,199.83±34.20	1,191.54±53.70
FCR	1.30±0.05	1.33±0.02	1.31±0.01
22~35 days			
BW	2,355.18±77.76	2,348.45±70.62	2,392.69±59.71
Gain	1,347.45±54.99	1,360.74±73.66	1,392.87±76.85
Feed intake	1,871.89±73.38	1,893.67±26.63	1,873.40±64.44
FCR	1.39±0.05	1.40±0.07	1.35±0.09

Table 2. Continued

Item	Diets ¹		
	CON	PC1	PC2
4~35 days			
Total gain	2,266.53±74.32	2,261.35±71.42	2,304.31±55.55
Total feed intake	3,064.90±94.88	3,093.49±50.30	3,064.94±77.05
Total FCR	1.35±0.03	1.37±0.05	1.33±0.05

¹ CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , and *B. subtilis* 1×10^6 , *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6).

Values indicate mean±SD (n=9).

는 효과를 보였다. 이상의 결과로 보아 0.25~0.5% 수준의 복합생균제 급여 시 통계적으로 육계의 생산성에는 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

복합생균제 급여에 따른 육계의 장기 무게를 조사한 결과 (Table 3), 간, 췌장과 비장의 무게는 차이가 없어 생균제 급여(0.25~0.5%)가 이들 장기의 무게에는 영향을 미치지 않았다. 소장 점막 세포 무게는 복합생균제 0.25% 급여군(PC1)에서 대조군보다 유의하게($P<0.05$) 증가하였으나, 0.5% 급여군(PC2)은 차이가 없었다.

2. 혈액 생화학적 성상

복합생균제 급여에 따른 육계의 혈액에서 albumin, total protein, cholesterol, glucose 등과 같은 생화학성분은 대조군과 생균제 급여군(PC1 및 PC2) 모두 비슷한 수치를 보였다 (Table 4). 또한, 간 기능을 나타내는 AST 및 ALT 등과 같은

혈액 생화학적 지표 역시 정상 수준으로 0.25~0.5% 복합생균제 급여는 육계의 간 조직에 부정적인 영향이 없는 것으로 나타났다.

3. 혈액과 소장 점막세포의 면역지표 분석

복합생균제 급여에 따른 육계의 혈액과 소장 점막세포의 sIgA 및 IL-1 β 수준은 Fig. 1 및 Fig. 2에 각각 나타난 바와 같다. 혈액에서 sIgA 수준은 복합생균제 급여에 따른 통계적 차이는 변화는 없었으나, 급여수준에 따라 sIgA은 증가하는 경향을 보였다. 소장 점막세포에서 sIgA 수준은 PC2군에서 대조군보다 유의하게($P<0.05$) 증가하는 것으로 나타났으나, PC1군은 통계적 차이가 없었다(Fig. 1). 혈액과 점막세포에서 친염증 사이토카인 IL-1 β 수준은 생균제 급여에 따른 영향을 받지 않았다(Fig. 2).

이러한 결과로 보면 복합생균제 0.5% 수준의 급여는 소장

Table 3. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on the relative organ weights of broiler chicks

Item	Diets ¹		
	CON	PC1	PC2
Liver (g/100g BW)	1.87±0.38	1.79±0.13	1.75±0.11
Pancreas (g/100g BW)	0.17±0.02	0.18±0.03	0.16±0.03
Spleen (g/100g BW)	0.10±0.03	0.09±0.01	0.09±0.02
Small intestine length (g/100 g BW)	6.50±0.32	6.13±0.58	6.48±0.51
Intestinal mucosal tissues (g/100g BW)	0.72±0.18 ^b	0.94±0.16 ^a	0.75±0.13 ^{ab}

¹ CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6).

Values indicate mean±SD (n=8).

Table 4. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on blood biochemical profiles in broiler chicks

Item	Diet ¹		
	CON	PC1	PC2
Albumin (g/dL)	0.77±0.12	0.77±0.12	0.82±0.13
Total protein (g/dL)	2.53±0.48	2.40±0.28	2.60±0.43
Triglyceride (mg/dL)	22.17±3.92	20.67±5.13	21.83±7.33
Cholesterol (g/dL)	119.00±21.85	107.17±16.85	110.67±17.35
Glucose (mg/dL)	208.83±14.70	207.67±15.69	224.67±19.07
AST (U/L)	341.83±56.07	377.80±112.27	342.17±101.67
ALT (U/L)	6.17±1.17	6.67±1.63	7.00±0.89

¹ CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6).

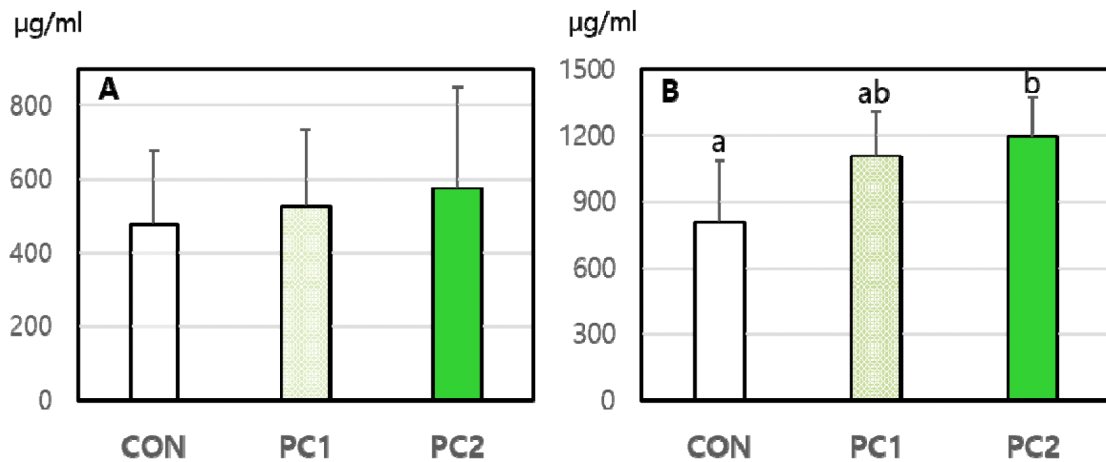


Fig. 1. Effect of dietary supplementation of probiotics complex on sIgA in blood (A) and intestinal mucosal tissues (B) of broiler chicks. * CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6). ^{a,b} Indicates the significance difference among the treatment ($P < 0.05$) in response to the dietary supplementation of probiotic complex.

점막세포에서 sIgA 분비량을 증가시켜 체액성 면역작용을 향상시키는 것으로 나타났다.

4. 소장 점막세포의 소화효소 활성화

육계의 소장 점막세포에 존재하는 maltase와 sucrase 등 이당류 분해효소 활성화도는 복합생균제 급여가 영향을 미치지 않았다(Table 5). 또한, leucine aminopeptidase 효소 활성화도 역시 복합생균제 급여에 따른 차이가 없는 것으로 관찰되었

었다.

5. 분에서 미생물 군집 및 유해가스 발생

복합생균제 급여에 따른 육계의 분에 존재하는 미생물 집락수(cfu)와 가스발생 농도를 측정된 결과는 각각 Table 6 및 Fig. 3에 나타난 바와 같다. *Lactobacillus* 및 *Saccharomyces cerevisiae*는 복합생균제 0.5% 급여 시 대조군보다 이들 미생물군의 cfu 값이 현저히($P < 0.05$) 증가하는 것으로 관찰되었

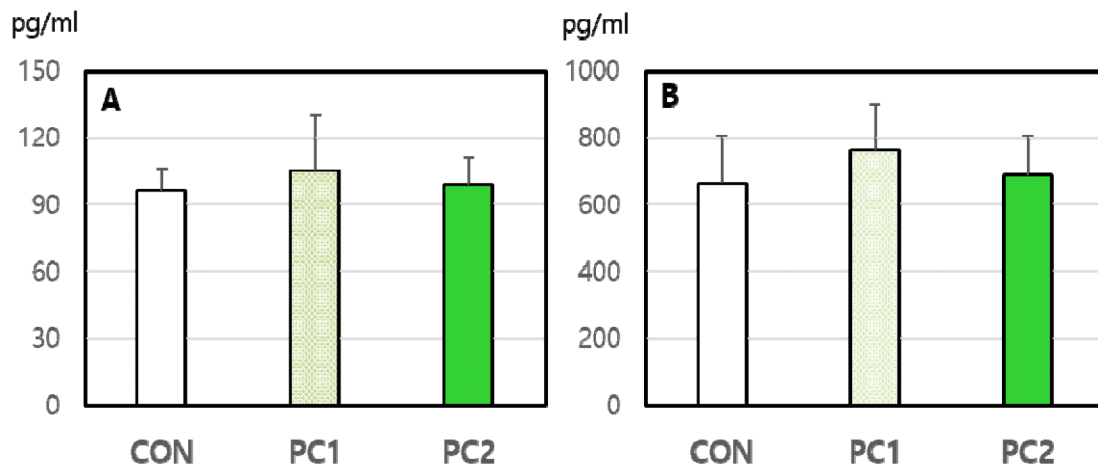


Fig. 2. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on IL-1 β in blood (A) and small intestinal mucosal tissue (B) of broiler chicks. * CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6).

Table 5. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on the activity of hydrolase in the small intestinal mucosae of broiler chicks

Item	Diets ¹		
	CON	PC1	PC2
Maltase (uM/min/mg protein)	0.422±0.065	0.451±0.115	0.442±0.058
Sucrase (uM/min/mg protein)	0.019±0.009	0.021±0.006	0.022±0.007
Leucine amino peptidase (uM/min/mg protein)	0.237±0.006	0.274±0.111	0.278±0.067

¹ CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6).

Table 6. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on colony forming unit (cfu/g) of microbes in the feces of broiler chicks

Item	Diets ¹		
	CON	PC1	PC2
<i>Lactobacillus</i> (cfu/g)	8.06±0.21 ^b	8.32±0.27 ^{ab}	8.41±0.14 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> (cfu/g)	8.18±0.30	8.07±0.42	8.27±0.31
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (cfu/g)	8.09±0.35 ^b	8.32±0.19 ^{ab}	8.44±0.18 ^a
<i>E. coli</i> (cfu/g)	6.41±0.41 ^a	6.36±0.42 ^a	5.77±0.30 ^b

¹CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6). ^{a,b}indicates the significance difference among the treatment ($P < 0.05$) in response to the dietary supplementation of probiotic complex.

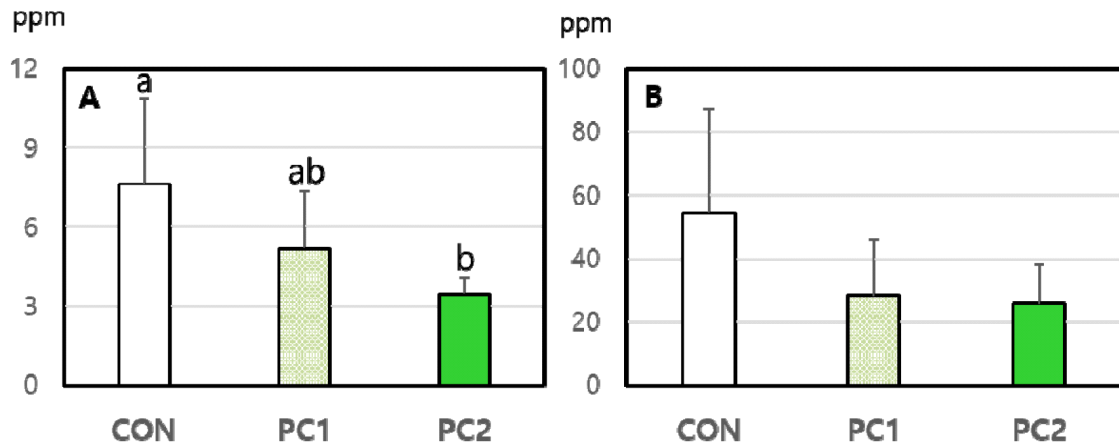


Fig. 3. Effect of dietary supplementation of probiotic complex on the odor in the feces of broiler chicks (A: H₂S and B: CH₃SH). * CON (basal diet), PC1 (basal diet supplemented with 0.25% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6) and PC2 (basal diet supplemented with 0.5% of probiotic complex; *L. plantarum*, 1×10^6 , *B. subtilis* 1×10^6 , and *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^6). ^{ab} Indicates the significance difference among the treatment ($P < 0.05$) in response to the dietary supplementation of probiotic complex.

다. 또한, *E. coli* cfu 값은 복합생균제 0.5% 급여군에서 유의하게($P < 0.05$) 감소하여 복합생균제 급여가 유해 미생물의 번식을 억제하는 기능이 있는 것으로 보인다. 그러나 *B. subtilis* cfu 값은 복합생균제 급여에 따른 영향이 나타나지 않았다 (Table 6).

분에서 생성되는 유해가스(H₂S 및 CH₃SH) 농도를 살펴보면 복합생균제 0.5% 급여군(PC2)에서 황화수소의 발생량은 유의하게($P < 0.05$) 감소하는 것으로 분석되었다(Fig. 3). 메틸메르캅탄 발생량은 샘플간 변이가 커서 유의적 차이는 없었지만, 복합생균제 급여 시 대조군의 약 50% 수준으로 낮게 발생하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

고 찰

가축의 장내 미생물 군총은 바람직한 위장관 환경조성에 중요한 영향을 미치는 것으로 선행 연구에 의하면 생균제 급여는 소화관의 유해 미생물 군집을 감소시켜 건강한 환경을 유지하여 소화와 면역작용을 증가시키고, 가축의 생산성 향상에 긍정적 효과가 나타난다(Collington et al., 1990; Ko et al., 2003; Rajput et al., 2013; Wang et al., 2016). 본 시험에서 복합생균제 급여 시 육계의 증체와 사료이용성 등 생산성에는 유의적 차이가 없었다. 이러한 결과는 생균제 급여가 육계의 성장 및 사료 이용성이 개선되지 않았다는 연구 결과들(Awad et al., 2009; Bai et al., 2013; Lee et al., 2014)과 유사

하다. 최근 Rodjan et al.(2018)이 생균제(0.2%)를 육계에 35일령까지 급여한 실험에서도 사료 섭취량, 증체 및 사료 요구율 등에서 차이가 없는 것으로 나타나 본 결과와 일치한다. 또한, *B. subtilis*와 *Saccharomyces cerevisiae* 복합생균제를 육계에서 급여한 연구(Chen et al., 2009) 역시 체중과 증체에는 유의적 영향이 없었다고 보고하였다. 그러나 Yeo and Kim(1997)이 생균제(0.1%)를 급여한 경우, 육계 성장초기 3주 동안 사료 섭취량과 증체가 개선되었다는 연구 결과를 비롯하여 생균제를 급여 시 성장 또는 사료 이용성이 개선된다는 보고들(Jin et al., 1998; Wang et al., 2017)이 발표되었다. Awad et al.(2009)의 연구에 의하면 생균제 급여 시 비장, F-낭 등 면역 장기의 변화는 없었지만, 소장 무게가 증가하고, 흡수 세포의 융모(villi)와 음와(crypt) 깊이 비율과 융모 길이가 증가하여 소장의 건강에 유익한 결과를 보였다. 본 연구에서도 생균제급여 시 비장, F-낭 등 면역 장기의 변화는 없었지만 0.25% 급여군에서 대조군에 비해 점막세포의 무게가 증가하는 것으로 나타났다. 한편, Pourakbari et al.(2016)은 육계에 복합생균제(0.02%, 유산균, 고초균, *Aspergillus oryzae* 등)를 급여하였을 때 면역 장기의 무게에는 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 이러한 연구 결과들로 보아 생균제가 가축의 생산성에 미치는 효과는 생균제 속주 특이성, 생균제 종류, 사료 배합성분, 환경요인 등에 의해 상당히 다른 결과를 나타낼 수 있는 것으로 판단된다(Aktas et al., 2016).

본 연구는 생균제 급여에 따라 혈중 생화학성분은 차이가

없는 것으로 나타났다. Park et al.(2010)이 복합생균제를 0.1~0.5% 수준으로 육계에 급여 시 혈액의 Total 및 HDL-cholesterol 수준에는 유의적 차이가 없음을 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다. 그러나 생균제를 급여한 일부 연구에서 혈중 cholesterol 수준이 감소한다고 보고되고 있지만 명확한 과학적 기전은 밝혀져 있지 않았다(Zhang and Kim, 2013; Shokryazdan et al., 2017). 생균제가 cholesterol을 저하시키는 기전으로 활성화된 장내 유익 혐기성균의 가수분해효소가 십이지장으로 분비된 cholesterol을 분해하여 배설을 촉진한다는 것과 콜레스테롤 합성 효소인 HMG(hydroxymethylglutaryl) CoA reductase의 활성을 억제한다는 것이다(Fukushima and Nakano, 1995). 또한, 간 기능 수치는 나타내는 AST 및 ALT 지표 역시 정상 수준으로 0.25~0.5% 복합생균제 급여는 육계의 간 조직에 부정적인 영향이 없는 것으로 나타났다. 간 조직 손상 지표로서 AST와 ALT는 간, 근육 등에서 대사작용에 관여하는 효소로서 감염 또는 독성물질로 간 조직이 파괴되면 혈액으로 유실되어 농도가 증가한다(Giannini et al., 1999; Abboud and Kaplowitz, 2007).

생균제는 가축 위장관의 미생물 군락에 영향을 미치고 흡수 상피세포의 구조 안전화 및 면역 단백질을 생산하여 병원성 균에 대응하여 장관의 건강에 긍정적인 영향을 미친다(Rajput et al., 2013; Lee et al., 2014). 본 연구에서 복합생균제 급여 시 소장과 혈액에서 친염증 사이토카인(IL-1 β)에는 변화가 없었으나, 점막세포에서 면역항체(sIgA) 수준은 현저히 증가되었다. Bai et al.(2013)에 따르면 *Lactobacilli*와 *Saccharomyces cerevisiae* 복합생균제 급여로 육계의 성장에는 차이가 없었지만, 장관의 T-세포 면역체계를 자극하여 면역작용을 증강하는 것으로 보고하였다. Li et al.(2015)은 장기간(56일 및 84일) 생균제 급여는 소장의 면역작용에서 친염증 사이토카인 IL-1 β 와 nuclear factor-k(NF-kB)의 mRNA 발현을 감소시키는 것으로 보고하였다. 한편, Rajput et al.(2013)은 복합생균제를 72일간 육계에 급여 시 친염증 사이토카인(IL-6, TNF- α , IL-10, TGF- β) mRNA 발현과 sIgA 분비량이 모두 증가하였다고 보고하였다. 특히 sIgA는 소장 점막에서 병원성 미생물을 방어하는데 중요한 면역작용을 수행하는 것으로 Huang et al.(2004)도 *L. acidophilus*와 *casei* 등을 육계에 급여 시 IgA 수준이 증가되는 것으로 보고하였다. 본 연구결과 복합생균제(*L. plantarium*, *B. subtilis* 및 *Saccharomyces cerevisiae*) 급여 시에도 소장점막세포의 sIgA 수준이 증가되는 것으로 나타났다. 따라서 생균제 균종에 따라 다소 차이는 있지만 생균제 급여는 소장에서 체액성 면역

활성에 긍정적인 작용을 하는 것으로 판단된다.

생균제는 장내 유익 미생물 군총을 발달시켜 과도한 대장균 및 살모넬라와 같은 병원성 미생물로부터의 오염을 방지할 수 있다(Fuller, 1989). 유산균과 효모 등과 같은 생균제는 장내 소화물의 pH 저하, 유해 미생물의 독소생성 억제 및 소장 흡수세포의 기능 유지 등과 같은 작용기전이 보고되었다(Wilkins and Sequoia, 2017). Ng et al.(2009)은 생균제의 주요 작용기전으로는 *Clostridium perfringer*, *E. coli* 등과 같은 장내 유해 세균을 억제하는 것으로 보고하였다. 닭에서 유해 병원성균이 장내에 우점되면 소장 흡수세포의 기능을 손상시켜 영양소의 소화작용을 저해하여 생산성에 부정적인 영향을 미친다(Huyghebaert et al., 2010). Kim et al.(2012)은 복합생균제를 육계에 급여 시 영양소의 소화율이 증가하고 장내 유해균인 *Clostridium*과 *E. coli* 균수가 감소하는 현상과 밀접한 관계가 있음을 보고하였다. Gadde et al.(2017)도 생균제를 육계에 급여 시 LPS-유발 친염증 사이토카인의 발현을 완화하고, 소장 tight junction 단백질의 mRNA 발현을 촉진한다고 보고하였다. Rajput et al.(2013)은 복합생균제를 육계에 급여 시 소장 흡수세포의 tight junction이 잘 발달하여 병원균의 침입 방지와 영양소 흡수를 증진한다고 보고하였다. Jin et al.(1998)은 유산균 급여 시 육계의 맹장에서 맹장의 *Lactobacilli* 균총은 유의적 차이가 없었지만 coliform 균총은 현저히 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 생균제 급여에 따라 분종의 *E. coli*는 감소하고 *Lactobacilli* 균총은 현저히 증가하였으나, 소장 점막세포에 존재하는 maltase, sucrase 및 leucine aminopeptidase 활성도에서는 차이를 보이지 않았다.

생균제 급여에 따른 분종 유해가스의 발생 억제 작용은 가장 널리 알려진 생균제의 효과로서 알려져 있다. 본 연구결과와 유사하게 많은 연구에서 생균제를 급여할 경우 분의 황화수소, 암모니아 등 유해가스 발생을 감소시키는 것으로 보고되었다(Ko et al., 2003; Chu et al., 2011; Zhang and Kim, 2013; Ahmed et al., 2014). 닭에서 배설되는 질소 성분은 주로 요산, 미생물체 단백질과 내생 질소로 구성되어 있는데, 생균제를 급여할 경우 암모니아 생성에 관련된 장내 유해 미생물의 번식이 억제되는 것으로 보고되었으며(Ahmed et al., 2014), 이러한 결과 유해가스의 발생이 감소하는 것으로 생각된다. Lan et al.(2017)의 연구에 의하면, 육계 사료에 0.1~0.2% 수준의 생균제 첨가 시 NH₃와 H₂S의 발생량이 현저히 감소되어 유해가스의 생성을 억제할 수 있음을 보고하였다. 본 연구에서도 생균제 0.5% 첨가군에서 H₂S 발생 수준이 유의적으로 감소(69%)하고 메르캅탄 농도가 약 50% 감소하는

효과가 나타나 특히 사육조건이 열악한 농장에서 생균제를 급여할 경우 축분의 냄새를 현저히 감소시킬 수 있을 것으로 판단된다. 육계의 사육환경 조건의 개선은 가축의 에너지 대사작용에도 긍정적 영향을 미쳐 생산성 개선으로 이어질 수 있다.

결론적으로 본 연구는 복합생균제 급여(0.25~0.5%)에 따라 육계의 생산성에는 영향을 미치지 않았지만, 소장 점막세포에서 체액성 면역작용을 증강하고 유익균 증식과 유해균의 억제작용이 나타났다. 또한, 분중의 유해가스 발생을 억제하여 환경친화형 축산에서 생균제가 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 복합생균제(*L. plantarum*, *B. subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*)를 0%(CON, 대조군), 0.25%(PC1) 및 0.5%(PC2) 수준으로 급여하여 육계의 생산성, 장기 무게, 혈액 생화학적 성상 및 면역지표, 소화효소 활성도, 분의 미생물 군락 및 유해가스 발생에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시되었다. 복합생균제 급여는 체중 등과 같은 생산성에는 유의적 영향을 미치지 않았다. 간과 흉선 무게는 복합생균제 급여에 따른 영향이 없었으나, 소장 점막세포 무게는 PC1군에서 유의하게($P<0.05$) 증가하였다. Glucose, cholesterol, AST, ALT 등과 같은 혈액 생화학성분은 복합생균제 급여에 따른 변화가 없었다. 분비형 면역글로불린 A(sIgA) 수준은 PC2군에서 대조군과 비교해 소장 점막세포에서 유의하게($P<0.05$) 증가하였으며, 혈액에서도 PC2군에서 대조군보다 약 20% 증가하는 경향을 보였다. 혈액과 소장 점막세포의 IL-1 β 수준은 복합생균제 급여에 따른 차이가 없었다. 또한, 복합생균제 급여가 소장 점막세포의 maltase, sucrase 및 leucine aminopeptidase 활성도에는 영향을 미치지 않았다. 한편 *Lactobacillus* 및 *Saccharomyces cerevisiae* cfu 수준은 복합생균제 0.5% 급여군에서 대조군보다 유의하게($P<0.05$) 증가하였고, *E. coli* cfu 값은 감소하였다($P<0.05$). 복합생균제 0.5% 급여 시 분에서 황화수소(H_2S) 발생량은 유의하게($P<0.05$) 감소하였으며, 메틸메르캅탄(CH_3SH) 발생량 역시 50% 수준으로 낮았다. 결론적으로 복합생균제 급여(0.25% 및 0.5%)는 육계의 생산성에는 영향을 미치지 않았지만 0.5% 수준으로 급여할 경우 소장 점막세포의 sIgA 증가와 유익 미생물 군총의 증식을 유도하여 분의 유해가스 발생을 감소시키는 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 고려산업(주)과 경남과학기술대학교 동물생명 산업센터의 지원하에 수행되었습니다.

ORCID

Min-Jeong Kim	https://orcid.org/0000-0002-7147-5391
Dong-Gyung Jeon	https://orcid.org/0000-0002-4296-1454
Ho-Sung Ahn	https://orcid.org/0000-0001-8706-7133
Il-Gyu Yoon	https://orcid.org/0000-0001-5734-3942
Eun-Seo Moon	https://orcid.org/0000-0003-4961-7418
Chai-Hyun Lee	https://orcid.org/0000-0002-6216-3126
Yong Lim	https://orcid.org/0000-0001-9913-0048
In-Surk Jang	https://orcid.org/0000-0001-9021-8852

REFERENCES

- Aboud G, Kaplowitz N 2007 Drug-induced liver injury. A review. *Drug Saf* 30(4):277-294.
- Ahmed ST, Islam M, Mun HS, Sim HJ, Kim YJ, Yang CJ 2014 Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens. *Poult Sci* 93(8): 1963-1971.
- Aktas B, De Wolfe TJ, Safdar N, Darien BJ, Steele JL 2016 The impact of *Lactobacillus casei* on the composition of the cecal microbiota and innate immune system is strain specific. *PLoS One* 11(5):e0156374.
- Awad WA, Ghareeb K, Abdel-Raheem S, Bohm J 2009 Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poult Sci* 88(1):49-56.
- Bai SP, Wu AM, Ding XM, Lei Y, Bai J, Zhang KY, Chio JS 2013 Effects of probiotic supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poult Sci* 92(3):663-670.
- Chen KL, Kho WL, You SH, Yeh RH, Tang SW, Hsieh CW 2009 Effects of *Bacillus subtilis* var. *natto* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. *Poult Sci* 88(2):309-315.

- Chu GM, Lee S, Jeong HS, Lee SS 2011 Efficacy of probiotics from anaerobic microflora with prebiotics on growth performance and noxious gas emission in growing pigs. *Anim Sci J* 82(2):282-290.
- Collington GK, Parker DS, Armstrong DG 1990 The influence of inclusion of either an antibiotic and a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. *Br J Nutr* 64:59-70.
- Dahlgvist A 1968 Assay of the intestinal disaccharidase. *Anal Biochem* 22:99-107.
- Fukushima M, Nakano M 1995 The effect of a probiotic on fecal and liver lipid classes in rats. *Br J Nutr* 73(5): 701-710.
- Fuller R 1989 Probiotics in man and animals: a review. *J Appl Bacteriol* 66:365-378.
- Gadde UD, Oh S, Lee Y, Davis E, Zimmerman N, Rehberger T, Lillehoj HS 2017 Dietary *Bacillus subtilis*-based direct-fed microbials alleviate LPS-induced intestinal immunological stress and improve intestinal barrier gene expression in commercial broiler chickens. *Res Vet Sci* 114:236-243.
- Gal-Garber O, Uni Z 2000 Chicken intestinal aminopeptidase: partial sequence of the gene, expression and activity. *Poult Sci* 79(1):41-45.
- Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, Celle G, Testa R 1999 Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. *Dig Dis Sci* 44(6):1249-1253.
- Hosoi T, Ametani A, Kiuchi K, Kaminogawa S 1999 Changes in fecal microflora induced by intubation of mice *Bacillus subtilis* (Natto) spores are dependent upon dietary components. *Can J Microbiol* 45(1):59-66.
- Huang MK, Choi YJ, Houde R, Lee JW, Lee B, Zhao X 2004 Effects of *Lactobacilli* and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poult Sci* 83(5):788-795.
- Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F 2011 An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet J* 187(2):182-188.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S 1998 Growth performance, intestinal microbial population, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* culture. *Poult Sci* 77:1259-1265.
- Kabir SM 2009 The role of probiotics in the poultry industry. *Int J Mol Sci* 10:3531-3546.
- Kim JS, Ingale SL, Kim YW, Kim KH, Sen S, Ryu MH, Lohakare JD, Kwon IK, Chae BJ 2012 Effect of supplementation of multi-microbe probiotic product on growth performance, apparent digestibility, cecal microbiota and small intestinal morphology of broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 96(4):618-626.
- Kim YR, Ahn BK, Kim MS, Kang CW 2010 Effects of dietary supplementation of probiotics (MS102[®]) on performance, blood cholesterol level, size of small intestine and intestinal microflora in broiler chicks. *Kor J Anim Sci* 42(6):849-858.
- Ko YD, Sin JH, Kim SC, Kim YM, Park KD, Kim JH 2003 Effects of dietary probiotics on performance, noxious gas emission and microflora population on the cecum in broiler. *J Anim Sci Technol* 45(4):559-568.
- Lan R, Tran H, Kim I 2017 Effects of probiotic supplementation in different nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, fecal microflora and noxious gas emission in weaning pig. *J Sci Food Agric* 97(4):1335-1341.
- Lee KW, Lillehoj HS, Jang SI, Lee SH 2014 Effects of salinomycin and *Bacillus subtilis* on growth performance and immune responses in broiler chickens. *Res Vet Sci* 97(2):304-308.
- Li HL, Li ZJ, Wei ZS, Liu T, Zou XZ, Liao Y, Luo Y 2015 Long-term effects of oral tea polyphenols and *Lactobacillus brevis* M8 on biochemical parameters, digestive enzymes, and cytokines expression in broilers. *J Zhejiang Univ Sci B* 16(12):1019-1026.
- Nava GM, Bielke LR, Callaway TR, Castaneda MP 2005 Probiotic alternatives to reduce gastrointestinal infections: the poultry experience. *Anim Health Res Rev* 6(1):105-118.
- Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC 2009 Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis* 15(2):300-310.
- Nurmi E, Rantala M 1973 New aspects of *Salmonella infection* in broiler production. *Nature* 241:210.
- O'Shea CJ, Sweeney T, Bahar B, Ryan MT, Thornton K,

- O'Doherty JV 2012 Indices of gastrointestinal fermentation and manure emissions of growing-finishing pigs as influenced through singular or combined consumption of *Lactobacillus plantarum* and inulin. *J Anim Sci* 90(11): 3848-3857.
- Park SH, Choi JS, Jung DS, Auh JH, Choi YI 2010 Effects of complex probiotics and antibiotics on growth performance and meat quality in broilers. *Kor J Food Sci Ani Resour* 30(3):504-511.
- Pourakbari M, Seidavi A, Asadpour L, Martinez A 2016 Probiotic level effects on growth performance, carcass traits, blood parameters, cecal microbiota, and immune response of broilers. *An Acad Bras Cienc* 88(2):1011-1021.
- Rajput IR, Li LY, Xin X, Wu BB, Juan ZL, Cui ZW, Yu DY, Li WF 2013 Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. *Poult Sci* 92(4):956-965.
- Rodjan P, Soisuwan K, Thongprajukaew K, Theapparat Y, Khongthong S, Jeenkeawpieam J, Salaeharae T 2018 Effect of organic acids or probiotics alone or in combination on growth performance, nutrient digestibility, enzyme activities, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 102(2):e931-e940.
- Shang QH, Yang ZB, Yang WR, Li Z, Zhang GG, Jiang SZ 2016 Toxicity of mycotoxins from contaminated corn with or without yeast cell wall adsorbent on broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 29(5):674-680.
- Shokryazdan P, Faseleh Jahromi M, Liang JB, Ramasamy K, Sieo CC, Ho YW 2017 Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PLoS One* 12(5):e0175959.
- Wang X, Farnell YZ, Peebles ED, Kiess AS, Wamsley KG, Zhai W 2016 Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident *Lactobacillus* of male broilers. *Poult Sci* 95(6):1332-1340.
- Wilkins T, Sequoia J 2017 Probiotics for gastrointestinal conditions: a summary of the evidence. *Am Fam Physician* 96(3):170-178.
- Yeo J, Kim K 1997 Effects of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poult Sci* 76:381-385.
- Zhang ZF, Kim IH 2013 Effects of probiotic supplementation in different energy and nutrient density diets on performance, egg quality, excreta microflora, excreta noxious gas emission, and serum cholesterol concentrations in laying hens. *J Anim Sci* 91(10):4781-4787.

Received Jul. 16, 2020, Revised Sep. 3, 2020, Accepted Sep. 4, 2020