Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 28, No. 1, 8–13 (2000)

자돈에 투여한 *Lactobacillus reuteri* BSA-131의 생균제 효과

장영효 · 김종근 · 김홍중 · 김원용[1] · 김영배[2] · 박용하*
생명공학연구소, [1]중앙대학교 의과대학 미생물학교실, [2]고려대학교 생명공학원

Probiotic Effects of *Lactobacillus reuteri* BSA-131 on Piglets. Chang, Young-Hyo, Jong-Keun Kim, Hong-Joong Kim, Won-Yong Kim[1], Young-Bae Kim[2], and Yong-Ha Park*. *Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Yusung P.O., Box 115, Taejon 305-600, Korea, [1]Department of Microbiology, Chung-Ang University, College of Medicine, Seoul 156-756, Korea, [2]Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea* – A study was carried out to determine the probiotic effect of *Lactobacillus reuteri* BSA-131 by investigating the growth performance and fecal microbial population of piglets. Five dietary treatment groups, the basal diet (control, BD), basal diet with antibiotics (BA), basal diet with 2×10^6/g of probiotics (BP6), 2×10^8/g of probiotics (BP8) and basal diet with antibiotics and 2×10^8/g probiotics (BAP8) were devised. Each dietary treatment group was consisted of 1 month of age piglets(male 13, female 12). Fecal microflora, body weights and feed consumption were measured at before, after and stop feeding of probiotics. The results showed that the CFU of fecal *Enterobacteriaceae* of piglets of the group BA, BP6, BP8 and BAP8, were reduced ($P<0.05$) compared to control BA. On the contrary, *Lactobacillus* counts were increased significantly ($P<0.001$) in all groups fed probiotics diets, but not antibiotics. Body weight of probiotics treated piglets were improved 5% ($P<0.001$) in BP6 group than that of control group and antibiotic treated piglets BAP group was 27% ($P<0.001$) greater weight gaining than BA group. The amount of feed consumption value of probiotics treated piglets showed 21-30% ($P<0.001$) lower intake than the control group, whereas antibiotic treated piglets BAP was 20% ($P<0.001$) higher than BA group. The results showed that body weights and feed to gain ratios were improved 19% when compared to control piglets for groups fed diets probiotic. It is very suggestive that productivity of probiotic piglets would be economical in pig farming.

Key words: intestine, probiotic, antagonistic, piglet, weight gaining, *Lactobacillus*

양돈업이 대규모로 산업화되고 설사와 질병으로 인한 경제적 손실이 늘어나면서, 항생제의 개발과 화학치료제의 사용으로 생산성이 향상되는 성과를 이루었다[30]. 그러나 항생제의 잔류로 인한 잠재적 위해성이 제기되면서 1986년 스웨덴에서 처음으로 사료첨가제로의 사용이 금지되었으나, 국내에서는 여전히 사료에 사용되고 있어 항생제 내성세균들의 출현이 계속되고 있다. 수출입 되는 육류제품에 대한 잔류 독성물질 검사가 전세계적으로 강화되는 추세에서, 항생제의 사용을 줄이고 이를 대체할 물질 개발에 대한 요구가 커지고 있으며, 안전한 육류식품에 대한 소비자의 요구가 증가되고 있는 실정이다[9]. 이러한 관점에서 probiotics와 prebiotics에 의한 가축의 질병예방과 육질개선을 위해 다양한 노력들이 시도되고 있다[9]. Phytic acid에 의한 칼슘과 인의 흡수저해를 방해하는 효과를 지닌 젖산의 소화관내 농도를 증가시키기 위해, 자돈의 장내 유산균을 투여하여 건강증진과 증체 효과를 확인하는 실례가 처음으로 보고[22]된 이후, Parker[24]와 Fuller[9]에 의하여 probiotics의 개념이 살아있는 미생물 첨가제 개념으로 정립되었다. 지난 20년간 축산에서 항생제 대체물로서 유산균을 중심으로한 생균제가 사용되어 왔다. 양돈용 생균제에 사용되었던 미생물은, 강한 산생성력과 병원성세균의 억제력이 뛰어난 *Lactobacillus acidophilus, L. lactis, L. reuteri, L. plantarum, L. casei, L. fermentum, L. delbrueckii subsp. bulgaricus, L. brevis* 등의 유산균이 주종을 이루며[9, 11, 29], *Entercoccus faecalis, Ent. faecium, Bifidobacterium bifidum, Bif. pseudolongum, Bif. thermophilum, Bacillus subtilis, B. toyoi, B. licheniformis, Clostridium butyricum, Saccharomyces* sp. 등 이 이용되고 있다[13, 18, 20]. 사료에 첨가되는 유산균의 효능이 발휘되기 위해서는 1차적으로 위액의 강산과 췌장에서 분비되는 담즙산에 대한 내성, 장내 상피세포에의 부착력, 장관내 환경에서의 활발한 증식력 그리고 유해세균에 대한 강한 길항능력 등 이 요구된다[3, 5, 14, 16, 17, 26, 27].

*Corresponding author
Tel. 042-860-4620 Fax. 042-860-4625
E-mail: yhpark@kribb4680.kribb.re.kr

본 연구에서는 국산 probiotics용 균주를 개발할 목적으로 내산성과 내담즙성 및 유해세균 길항력이 뛰어난 장내세균을 사육 자돈에 투여하여, 그 효과를 검증하는 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 자돈

국내사육돼지 Landrace white로부터 분리, 동정된 *Lactobacillus reuteri* BSA131 균주를 사용하였다[5]. 생후 30일된 Landrace white 자돈 25마리(암 12, 수 13)를 각각 5구로 나누어 시험사료와 물만을 급여하면서 4주 동안 실험하였다.

장내세균총의 변화 측정

사육 자돈의 분변을 기간별로 채취하여 혐기희석액[21]에 희석하고, 유산균은 *Lactobacillus* 선택배지인 LBS agar (BBL, USA)에서 혐기적(Anaerobic System 1025, Forma Scientific Inc, USA)으로 배양하고, 대장균군은 *Enterobacteriaceae* 선택배지인 DHL agar (Eiken, Japan)에서 37°C, 48시간 호기 배양하여 생균수를 측정하였다.

통계분석

얻어진 자료의 분석은 Statistic analysis system (SAS Institute. Inc., Carry. NC. USA) version 6.12를 사용하였다.

생균제제의 조제

다량의 균체를 얻기 위하여 300L fermentor(KF-300L, 한국발효기기)를 이용하여 MRS broth에서 37°C, 20시간 배양하였다. 원심 분리하여 균체를 회수하고 탈지분유에 희석 동결 건조한 후, 말분(대한제당)에 혼합하고 기본사료에 첨가하여 생균제를 제조하였다. 기본사료로서 축협사료를 사용하였으며, 항생제는 oxytetracycline(13.2%, w/w)과 tiamuline(1.1%, w/w)을 기본사료에 혼합 첨가하였다.

가축 투여시험

생후 30일된 자돈 25마리(암 12, 수 13)를 각각 5구로 구별하여 시험사료와 물만을 급여하면서 4주 동안 각 개체의 건강상태를 기록하고 사료섭취량, 증체량, 설사발생빈도, 그리고 유산간균과 대장균의 장내세균총 변화 등을 조사하였다. 시험사료는 항생제가 첨가되지 않은 기본사료와 여기에 항생제 또는 생균제를 구별로 각각 다르게 조제하여 급여하였다(Table 1). 사육하는 동안 제제 투여 전 8일간, 투여중 14일간 그리고 투여중단 후 7일까지 각 구별 개체의 성적을 조사하였다.

결과 및 고찰

장내세균총의 변화

새로운 생균제로서 장내 증식과 정착성, 그리고 유해세균 억제력 등을 조사하기 위하여, 사육 자돈을 대상으로 생균제 투여기간별 분변내 유산균과 대장균총의 변화를 조사하였다. 시험기간중 대장균총의 변화는 기본사료를 투여한 대조구인 1구에서는 거의 변화가 없었으나, 생균제와 항생제가 투여된 나머지구에서는 뚜렷하게 감소하였다 ($P<0.05$). 국내 사육농가에서 일반적으로 사용되는 사료와 같이 항생제 첨가사료만을 투여해도 주요한 장내 설사 유발요인인 대장균의 수가 감소할 수 있음을 보여준다. 그러나 2구의 낮은 균수에 비하여 생균제가 첨가된 3, 4구에서 보다 낮은 균수를 보인다. 이것은 투여된 생균제에 의한 대장균 억제력을 보여주는 결과로 해석할 수 있다. *Bacillus cereus*를 10^8CFU 수준으로 자돈에 투여하였을 때도 십이지장과 공장내의 *E. coli* 균수가 감소한다고 보고한

Table 1. Scheme of a feed preparation

Group	Diet composition
1	Basal diet(BD)
2	BD + Antibiotics(BA)[a]
3	BD + Probiotics 2×10^6 UFU/g(BDP6)[b]
4	BD + Probiotics 2×10^8 CFU/g(BDP8)
5	BA + Probiotics 2×10^8 CFU/g(BAP8)

[a] Antibiotics consist of oxytetracycline(13.2%, w/w) and tiamuline(1.1%, w/w).
[b] Freeze-dried probiotic organism in skim milk 10%.

Table 2. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on the swine fecal flora of *Enterobacteriaceae*

Group	Feed				
	A[a]	B[b]	C[c]	D[d]	E[e]
1	313.3±71.7[f]	294.2±72.2	251.2±60.6	258.4±54.1	272.3±70.1
2	310.1±128.1	160.7±64.7	64.9±27.4	34.5±16.0	26.8±15.3
3	274.1±76.3	125.6±27.8	41.5±7.2*	30.0±5.9*	17.7±4.5*
4	238.7±67.9	72.6±44.3*	31.0±20.9**	20.6±11.7*	8.4±1.8*
5	268.8±50.8	37.1±8.8*	3.0±1.3*	5.9±2.4*	1.6±0.9*

[a]Before feeding of probiotics. [b]Feeding of probiotics for 3 days. [c]Feeding of probiotics for 7 days. [d]Feeding of probiotics for 14 days. [e]3 days after stop feeding of probiotics. [f] viable cell counts($\times 10^3$ CFU/g). * Significantly different from the control ($P<0.05$). ** Significantly different from the control ($P<0.01$).

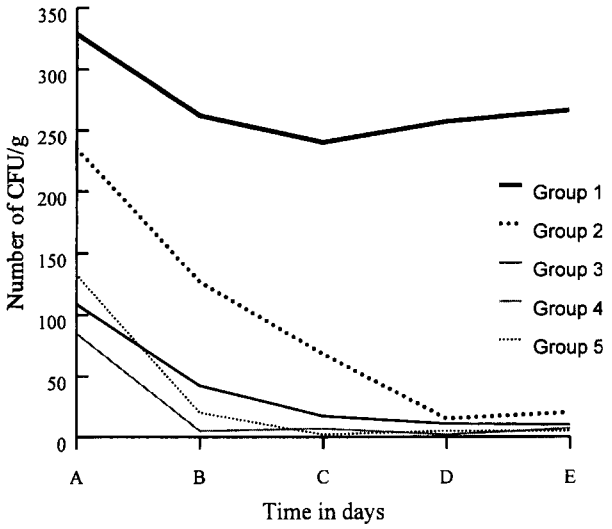

Fig. 1. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on the swine fecal flora of *Enterobacteriaceae*.
A, Before feeding of probiotics; B, Feeding of probiotics for 3 days; C, Feeding of probiotics for 7 days; D, Feeding of probiotics for 14 days; E, 3 days after stop feeding of probiotics.
Viable cell count data($\times 10^3$ CFU/g) shown significantly different from the control ($P<0.05$)

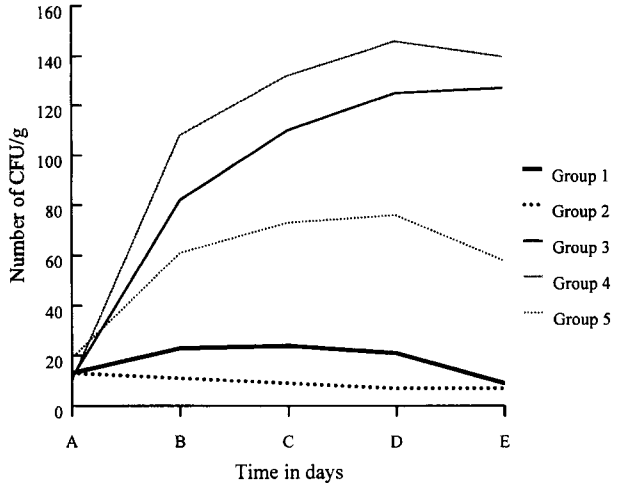

Fig. 2. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on the swine fecal flora of *Lactobacillus*.
A, Before feeding of probiotics; B, Feeding of probiotics for 3 days; C, Feeding of probiotics for 7 days; D, Feeding of probiotics for 14 days; E, 3 days after stop feeding of probiotics. Viable cell count data($\times 10^6$ CFU/g) shown significantly different from the control ($P<0.001$).

Table 3. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on the swine fecal flora of *Lactobacillus*

Group	Feed				
	A[a]	B[b]	C[c]	D[d]	E[e]
1	13.2±1.5[f]	22.7±8.9	23.9±7.6	21.0±7.3	9.1±2.3
2	12.8±2.2	11.4±2.5	9.4±1.2	7.4±2.4	6.8±1.9
3	10.9±1.3	82.3±5.9***	109.7±6.7***	125.0±9.2***	126.9±6.8***
4	9.5±2.3	107.5±4.8***	118.1±4.9***	151.3±6.3***	137.2±9.8***
5	18.5±2.9	60.8±3.8***	62.1±5.6***	75.6±3.5***	53.2±4.3***

[a]Before feeding of probiotics. [b]Feeding of probiotics for 3 days. [c]Feeding of probiotics for 7 days. [d]Feeding of probiotics for 14 days. [e]3 days after stop feeding of probiotics. [f]viable cell counts($\times 10^6$ CFU/g). *** Significantly different from the control ($P<0.001$).

Gedek, B. 등의 결과와 비교할 수 있다[10].

항생제와 생균제를 혼합 투여한 5구에서 대장균총의 감소가 가장 크게 나타났는데(Table 2, Fig. 1), 앞에서 언급한 항생제와 생균제에 의한 생육억제효과가 크게 나타난 것으로 볼 수 있다. 따라서 국내의 일반 사육농가에서 상용되는 항생제 사료에 생균제를 혼합 급여할 경우, 대장균에 의한 설사 발생율 만을 고려한다면 자돈의 설사발생을 상당부분 예방할 수 있을 것으로 보인다.

유산균총의 변화는 1구와 2구에서는 미약하였으나, 생균제를 첨가한 3, 4, 5구에서는 투여 이후부터 뚜렷한 증가가 기록되었다($P<0.001$, Table 3, Fig. 2). 2구에서의 유산균수가 1구에 비하여 낮은 것은 첨가된 항생제에 의한 장내 토착 유산균의 저해로 볼 수 있으며, 항생제사료의 단점으로 지적되는 결과이다. 5구에 비하여 3, 4구에서 높은 유산균수를 보인것은 5구에 첨가된 항생제에 의한 영향으로 보이며, 3구보다 4구에서 좀더 높은 균수가 나타난 것은 생균제가 100배 높은 균수로 첨가되었기 때문으로 해석된다.

그러나 대조구 1구에 비하면 생균제가 첨가된 5구에서의 생균수는 월등히 높게 검출되고 있다. du Toit, M. 등에 의하면 *Lactobacillus jhonsoni*와 *L. reuteri* 두균주를 2×10^{12}CFU/g 수준으로 돼지 마리당 매일 5주간 투여했을 때 분변내 유산균의 증가에 영향을 미치지 못했다고 하였으나[7], 본 실험에서는 유산균제제인 "Lacto Sacc"을 투여하여 4.77-7.22%의 증가가 이뤄진 것[19]보다 훨씬 높은 유산균수 증가가 관찰되었다(30.2-174.5%). 중요한 사실은, 생균제의 투여가 중지된 이후에도 투여전보다 훨씬 많은 유산균이 검출된 것인데, 이것은 투여된 유산균이 장내에

Table 4. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on feed intake and body weight gaining of pigs

	Group				
	1	2	3	4	5
Initial body weight(g)	10,840±87	6,04±042	9,00±086	8,420±54	9,440±78
Final body weight(g)	26,240±214	17,180±95	25,220±235	23,040±194	23,620±95
Body weight gain(g)	15,400±164	11,140±134	16,220±92***	14,620±86***	14,180±86***
Body weight gain(g/day)	513±5	371±4	541±3	487±4	473±3
Body weight gain(%)	100	100	105	95	127
Feed consumed(g)	29,000±155	20,000±127	22,800±135	20,040±122	24,000±149
Feed consumed(g/day)	1,033±51	714±27	814±38	728±31	857±41
Feed consumed(%)	100	100	79***	70***	120***

*** Significantly different from the control (P<0.001).

일정부분 정착하였음을 보여주는 결과이다. 즉, 외부에서 투여된 유산균이 자돈의 장내에서 정착하여 살아갈 수 있으며, 자돈의 성장에 유익한 여러 가지 생리활성 기능을 발휘할 수 있는 가능성을 확인해준다는 점이다. 생균제를 투여할 경우 유산균 균총은 증가되고 대장균총은 감소하며, 건강한 자돈이 그렇지 않은 자돈에 비하여 대장균총은 낮은 반면, 유산균총은 높게 유지되는 사실은, 유익한 세균총이 유해 세균총에 비하여 우세한 상태로 유지되는지 여부가 건강에 필수적이라는 기존의 학설을 입증해 주고 있다.

사료요구율과 증체율에 관한 효과

실험이 진행되는 동안 발생한 설사발생율은 23.1%(5.75/25수)로서 이유자돈의 설사율로 알려진 20-47%[1]의 최저치에 근접하는 결과이며, 폐사에 이른 자돈은 없었다. 생균제가 첨가된 3구와 4구의 경우 항생제 무첨가인 1구를, 항생제와 생균제의 혼합급여구인 5구는 항생제 첨가구인 2구를 대조구로 비교하였다(Table 1). 대조구를 100으로 하였을 때 증체량은 4구에서 5% 낮은 수준을 보였으나, 5구에서 27%, 3구에서 5% 높게 나타났다 (Table 4). 생균제 급여시 증체효과는 대조구와 비슷하거나 높은 수준을 보였는데, *Bacillus cereus*를 투여하였을 때 8.6-11.1% 증가되며[10] *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*를 혼합투여했을때의 13% 증가와 유사한 수준으로 볼 수 있다[8]. 생균제 첨가구보다 항생제와 생균제의 혼합 투여구에서 22-32% 높은 증체율을 보였다. 이러한 사실은 생균제에 의한 증체효과를 확인해주고 있으며, 항생제첨가에 의한 기존의 사육방법이 가축의 증체율에서는 일정부분 효과적이라는 사실을 반영하는 동시에, 생균제제와 혼합하여 사용할 때에도 좋은 증체효과를 얻을 수 있음을 나타낸다.

사료요구율은 3,4구에서 대조구에 비하여 각각 21, 30% 낮은 수준을 보였으나, 5구에서는 20% 높은 수치를 보이고 있다(Table 4, Fig. 3). 생균제 단독 급여구(3,4구)의 사료요구율이 항생제 혼합구(5구)에 비하여 낮은 수준을 보여, 항생제 혼합사료를 섭취한 구에서 상대적으로 많은 양의

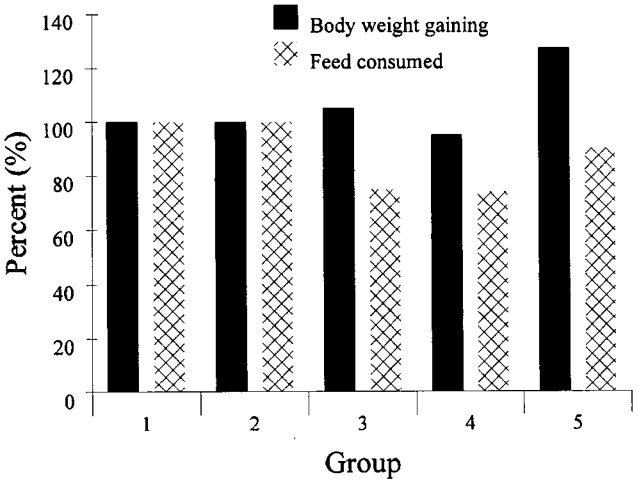

Fig. 3. Probiotic effect of *L. reuteri* BSA-131 on feed intake and body weight gaining of pigs.

사료를 소비한 것으로 나타났다. *Bacillus cereus*를 투여하였을 때는 오히려 사료량이 증가한 것으로 보고한 Kirchgessener, M. 등의 결과와 다르게 보인다[15]. 대조구인 1,2구 사이에서 나타나는 결과 즉, 항생제 무첨가구에서 더 많은 사료가 소요된 것과는 상반되는 반응이다. 사료소비 측면에서 생균제제를 섭취하는 자돈이 상대적으로 적은 양의 사료를 소비하는 경향이 있음을 시사하고 있다. 그럼에도 불구하고 증체량에서 비슷하거나 보다 높은 효과를 얻을 수 있음을 보여주고 있다.

투여한 사료소비량과 얻어진 증체량의 비율을 계산하여 생산성을 분석하면, 3구의 경우 사료요구율 79, 증체율 105로써 26% 높은 생산성을 보이며, 4구에서는 사료요구율 70, 증체율 95로써 25%, 5구는 사료요구율 120, 증체율 127로써 7%의 생산성을 보여준다. 생균제 단독 투여구에서 가장 높은 생산성을 나타냈으며, 항생제 혼합구에 비하여 19% 높은 결과를 보였다. 생산성에 기여하는 요인이 3,4구에서 낮은 사료요구율로서, 5구에서는 높은 증체율로서

각각 다르게 나타나는 특징이 있다. 생균제를 급여하여 사육할 경우, 생균제 단독투여(3,4구)방법이 항생제 혼합투여(5구)법에 비하여 적은 사료를 소비하지만, 보다 높은 증체량을 얻을 수 있음을 나타낸다. 즉 생균제제를 섭취한 자돈은 보다 적은 사료를 소비함으로써 생산성을 향상시키고, 항생제와 혼합 섭취할 경우에도 높은 증체율로서 수익성에 기여한다는 사실을 시사하고 있다.

보다 양질의 고기 생산과 위생적인 식품개발을 위하여 고부가치적이고 과학적인 축산이 요구되고 있는 상황에서, 이와 같은 효과적인 생균제를 이용하는 방향으로의 발상전환이 필요하다. 이를 과학적으로 뒷받침하기 위하여 가축의 장내세균총에 대한 microbial interaction, nutrition, physiology, colonization 그리고 안정성과 생리 대사에 대한 연구와, 생체에 대한 생리활성이 우수한 새로운 균주의 개발 노력이 필요한 시점이다.

요 약

국내 사육 돼지의 분변으로부터 분리, 동정된 *Lactobacillus reuteri* BSA-131 균주를 생균제로 제조하고 자돈에 투여하여 증체효과와 장내세균총의 변화를 조사하였다. 1개월령의 자돈 25두(암 12, 수 13)에 기본사료와 여기에 항생제, 생균제 2×10^6/g 또는, 2×10^8/g 그리고 항생제와 생균제 2×10^8/g 혼합 사료등 5종류의 사료를 제조하여 자돈에게 4주 동안 투여하였다. 생균제를 투여하기전과 투여기간중, 그리고 투여중지후의 각 기간동안 분변내 세균총의 변화, 증체효과, 그리고 사료섭취율 등을 조사하였다. 장내세균총의 변화에서 유해세균인 대장균총은 모든 자돈에서 대조구에 비하여 현저한 균수의 감소($P<0.05$가) 나타났으나, 유산균총의 균수는 항생제 사료군을 제외한 모든군에서 급격하게 증가($P<0.001$)하였다. 사료요구율은 대조구에 비하여 모든구에서 21-30% 감소($P<0.001$)하였으며, 항생제 투여시에는 항생제 사료군보다 항생제와 생균제 혼합투여구에서 20% 증가($P<0.001$)하였다. 증체율은 생균제 2×10^6/g 투여구에서만 대조구보다 5% 증가($P<0.001$)하였으나, 항생제와 생균제 혼합 투여구에서 27% 증가($P<0.001$)하였다. 투여한 사료소비율 대비 증체율에 의한 생산성을 분석하면, 생균제 투여구의 생산성이 항생제 혼합구에 비하여 19% 높게 나타나 훨씬 경제적인 사육방법임을 시사하였다.

REFERENCES

1. Backstrom, L. 1973. Environmental and health in piglet production. A field study of incidences and correlations. *Acta. Vet. Scand. Suppl.* **41**: 1–240.
2. Barrow, P. A., B. E. Brooker, R. Fuller, and M. J. Newport. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and it's important in the microecology of the intestine. *J. Appl. Bacteriol.* **48**: 147–54.
3. Campbell, G. L. and M. R. Bedford. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds: A review. *Can. J. Anim. Sci.* **72**: 449–466.
4. Champman, J. D. 1988. Probiotics, acidifiers and yeast culture: a place for natural additives in pig and poultry production. *in Biotechnology in the feed industry, Proc. Alltech's 4th Ann. Symp.* pp. 219–233.
5. Chang, Y.-H., J.-K. Kim, H.-J. Kim, J.-H. Yoon, W.-Y. Kim, Y.-W. Choi, W.-J. Lee, Y.-B. Kim, and Y.-H. Park. 1999. Characteristics of *Lactobacillus reuteri* BSA-131 isolated from swine intestine. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 23–27.
6. De simone, C., S. Tzantzoglou, L. Baldinelli, S. Difabio, B. Blanchi-Salvadori, E. Jirillo, and R. Vesely. 1988. Enhancement of host resistance against *Salmonella typhimurium* infection by a diet supplemented with yogurt. *Immun. Phamacol. Immunotoxicol.* **10**: 399–415.
7. du Toit, M., C. M. Franz, L. M. Dicks, U. Schilinger, P. Harberer, B. Warlies, F. Ahrens, and W. H. Holzapfel. 1998. Characterization and selection of probiotic *lactobacilli* for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, feces pH and feces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.* **40**: 93–104.
8. Francisco, T., R. Juan, F. Erenia, and L. R. Maria. 1995. Response of piglets to oral administration of lactic acid bacteria. *J. Food. Protect.* **58**: 1369–1374.
9. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 365–378.
10. Gedek, B., M. Kirchgessener, S. Wiehler, A. Bott, U. Eidelsburger, and F. X. Roth. 1993. The nutritive effect of *Bacillus cereus* as a probiotic in the raising of piglets. 2. Effect and microbial count, composition and resistance determination of gastrointestinal and fecal microflora. *Arch. Tierernahr.* **44**: 215–26.
11. Gilliland, S. E. and D. K. Walker. 1990. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* growth at different pH. *J. Dairy Sci.* **73**: 905–911.
12. Greenwood, P. E. and S. Tzipori. 1987. Protection of suckling piglets from diarrhoea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* by vaccination of the pregnant sow with recombinant DNA derived pilus antigens. *in Manipulating, Pig Production. Australian Pig Science Association.* Werribee, Victoria, Australia. p. 230.
13. Han I. K., J. D. Kim, and J. H. Lee. 1984. Studies on the growth promoting effects of probiotics. III. The effects of *Clostridium butyricum* ID on the performance and the changes in the microbial flora of the feces of growing pigs. *Korean J. Anim. Sci.* **26**: 166–171.
14. Khedkar, C. D., J. M. Mantri, and S. A. Kulkarnl. 1989. Therapeutic properties of acidophilus milk. *Indian Dairyman.* **41**: 562–565.
15. Kirchgessener, M., F. X. Roth, U. Eidelsburger, and B. Gedek. 1993. The nutritive effect of *Bacillus cereus* as a

probiotic in the raising of piglets. 1. Effect on the growth parameter and gastrointestinal environment. *Arch. Tierernahr.* **44**: 111–21.
16. Ko, Y.-H., T. -K. Oh, Y. H. Park, Y. S. Kim, D. Y. Yoo, and K. H. Cho. 1991. *Lactobacillus* sp. KCTC 8458BP and it's application. *Kor. Patent Publ. No.* 91004366: 187–195.
17. Ko, Y.-H., T. -K. Oh, Y. S. Kim, and D. Y. Yoo. 1991. New *Lactobacillus* sp. TSC-66 with acid and bile tolerance. *Kor. Patent Publ.* No. 91007817: 229–236.
18. Kornegay, E. T. and H. R. Thomas. 1973. Bacterial and yeast preparations for starter and grower rations. *Virginia Polytech Institute* and *State University, Research Division Report*, No. 151, Blacksburg, Virginia, USA
19. Kovacs-Zomborszky, M., F. Kreizinger, S. Gombos, and Z. Zomborszky. 1994. Data on the effects of the probiotic "Lacto Sac". *Acta Vet. Hung.* **42**: 3–14.
20. Kurman, J. A. 1983. The development and significance of new cultures with bifidobacteria as an example. *North. Eur. Dairy J.* **3**: 65–74.
21. Mitsuoka, T. 1984. A color atlas of anaerobic bacteria. 2nd ed. Shobunsha, Tokyo, Japan.
22. Mollgaard, H. 1947. Resorptionen af kalcium og fosforsyre. *Beretning fra forsogslab.*, **228**: 1–55.
23. Mumpton, F. A. and P. H. Fishman. 1977. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J. Anim. Sci.* **45**: 1118–1203.
24. Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health.* **29**: 4–8.
25. Pollman, D. S., D. M. Danielson, and E. R. Poe, Jr. 1980. Effect of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* **51**: 577–581.
26. Shahani, K. M., and A. D. Ayobo. 1980. Role of dietary *Lactobacilli* in gastrointestinal microecology. *Am. J. Clin. Nutr.* **33**: 2448–2457.
27. Finegold, S. M. 1970. The significance of the intestinal microflora. *Del. Med. J.* **42**: 341–345.
28. Tanock, G. W. 1990. The microecology of *lactobacilli* inhibiting the gastrointestinal tract. In Advances *in Microbial Ecology.* vol. 11. Plenum Press. New York. pp. 147–171.
29. Tournut, J. 1989. Applications of probiotics to animal husbundry. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **8**: 551–66.
30. Visek, W. J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 46: 1447–1469.

(Received June 29, 1999)