

## 혹서기 무창계사에서 육계의 혈액지질 및 짧은 사슬지방산에 관한 역전점등과 냉각수 효과

박상오<sup>1</sup> · 박병성<sup>†2</sup> · 황보 종<sup>3</sup> · 최희철<sup>3</sup>

강원대학교 동물자원공동연구소<sup>1</sup>, 동물생명공학과<sup>2</sup>, 국립축산과학원<sup>3</sup>  
(2014년 1월 28일 접수; 2014년 3월 6일 수정; 2014년 3월 10일 채택)

### Effect of cooling water and inverse lighting on short chain fatty acid and blood lipid of broiler chickens in closed poultry house during hot weather

Sang-Oh Park<sup>1</sup> · Byung-Sung Park<sup>†2\*</sup> · Jong Hwangbo<sup>3</sup> · Hee-Chul Choi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Animal Resources, <sup>2</sup>Department of Animal Biotechnology,  
Kangwon National University, Chuncheon 200-701,*

<sup>3</sup>*National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Republic of Korea  
(Received January 28, 2014; Revised March 6, 2014 ; Accepted March 10, 2014)*

**Abstract :** This experiment evaluated the interaction effect of extreme heat diet(EHD), inverse lighting, and cool water on the growth performance of broiler chickens under extreme heat stress. There were 4 experimental groups (T1: EHD 1, 10:00-19:00 dark, 19:00-10:00 light, cold water 9°C; T2: EHD 2, 10:00-19:00 dark, 19:00-10:00 light, cold water 9°C; T3: EHD 1, 09:00-18:00 dark, 18:00-09:00 light, cold water 14°C; T4: EHD 2, 09:00-18:00 dark, 18:00-09:00 light, cold water 14°C), each group composed of 25 broilers and the experiment was repeated 3 times. EHD 1 contained soybean oil, molasses, methionine and lysine. EHD 2 contained all nutrients of EHD 1 and vitamin C additionally. As a result, T1 and T2 displayed higher body weight increase and diet intake compared to T3 and T4 ( $p<0.05$ ). The weights of their liver and gizzard were similar but the weights of the thymus and bursa F were higher for T1 and T2 compared to that of T3 and T4 ( $p<0.05$ ). It was observed that T1 and T2 displayed higher concentrations of blood triglyceride, total cholesterol, HDL-C and blood sugar compared to that of T3 and T4 but LDL-C level was higher for T3 and T4 compared to that of T1 and T2 ( $p<0.05$ ). T1 and T2 displayed higher levels of immunity substances such as IgG, IgA and IgM compared to T3 and T4 but the blood level of corticosterone displayed to be lower for T1 and T2 compared to T3 and T4 ( $p<0.05$ ). The T1 and T2 contained a higher amount of fecal *Lactobacillus* compared to that of T3 and T4 but the T3 and T4 contained a higher amount of fecal *E. coli*, total aerobic bacteria, coliform bacteria compared to that of T1 and T2 ( $p<0.05$ ). T1 and T2 displayed higher concentrations of cecal acetic acid, propionic acid and total short chain fatty acids compared to T3 and T4 but T3 and

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: bspark@kangwon.ac.kr)

T4 displayed higher concentrations of butyric acid, isobutyric acid, valeric acid and isovaleric acid compared to T1 and T2 ( $p < 0.05$ ). These results have been observed that broiler chickens exposed to extreme heat stress with feeding EHD, inverse lighting and cold water would improve blood lipid, and elevate the production of immunity substance, beneficial microorganisms, and short chain fatty acids. This provision would also reduce the blood sugar consumption rate as energy sources and these effects will improve the growth performance of the broilers exposed to extreme heat.

*Keywords* : Blood lipid, inverse lighting, cooling water, short chain fatty acid, broiler.

## 1. 서 론

기후변화에 의한 혹서기 고온 스트레스는 브로일러의 성장능력 감소 및 폐사율 증가로 인한 고온피해를 가중시켜서 동물복지 불량 및 양계농가 소득감소를 초래하기 때문에 이에 대한 대책마련이 시급한 실정이다. 브로일러에서 성장능력 향상을 위한 최적온도는 18-22°C이고 성숙한 닭의 체온은 41°C이다. 닭에서 환경온도의 증가는 급격한 체온상승을 초래하여 열 스트레스로 인한 산화적 스트레스를 가중시키고 성장능력을 저해하여 체중감소를 초래할 수 있다[1]. 닭은 피부에 땀샘이 없고 깃털로 덮여있기 때문에 고온환경에 노출되면 체온유지를 위해서 헐떡거리는 개구호흡(panting), 활동력 감소, 사료섭취량 감소 및 음수량 증가와 같은 생리적 변화를 나타낸다[2]. 혹서기 고온 스트레스는 브로일러의 혈액 지질과 혈당 소모량 증가, 면역세포의 발육과 혈액 면역물질 감소, 장내 유익한 미생물과 짧은 사슬지방산을 낮추고 유해한 미생물의 증식을 높여서 브로일러의 성장능력을 낮춘다[3].

혹서기 고온 스트레스에 대한 역효과를 완화시키기 위한 유전학적, 영양학적 전략과 함께 환경, 사양기법으로써 점등조절, 제한급여 등 중요한 전략이 제안되었다[4]. 폭염 저항성 영양소로서 대두유, 당밀, 메티오닌, 라이신, 비타민 C를 적절하게 배합하여 제조된 폭염저항성 사료의 공급은 고온 스트레스에 노출된 브로일러의 성장능력을 자극하는 것으로 보고되었다[1, 4]. 닭은 빛에 매우 민감하며 빛은 사료섭취와 소화흡수를 촉진하기 위한 여러 가지 대사단계 및 체온을 포함한 많은 필수기능을 통합하고 조절하는 기능을 제어한다[5]. 광 주기는 닭의 행동에 영향을 주며 광 주기의 조절은 영양소이용율을 개선할 수 있다[6]. 닭에서 점등조절, 빛은 브로일러의 성장능력

을 자극하는 중요한 환경요인이며[7-9], 고온 스트레스 하에서 역전점등의 실행은 브로일러의 성장능력을 자극하는 것으로 보고되었다[1, 3]. 브로일러에서 열 스트레스 기간 동안 야간 사료제한급여는 대사열을 낮추기 위해 양계농가에서 사용되고 있으며[8, 10], 고온스트레스 하에서 폭염 저항성 사료의 야간 제한급여는 브로일러의 성장능력을 개선하는 것으로 보고되었다[1, 3]. 물은 동물에서 가장 중요한 영양소의 하나일 뿐만 아니라 특히 열 스트레스 기간 동안 닭에서 대사의 항상성과 관련하여 필수 생리적 역할을 수행한다. 고온 스트레스 하에서 체내의 수분 손실은 가금의 체열조절 균형에 있어서 현저한 변화를 나타내는 원인이 되고 희생을 초래할 수 있다. 더울 때 닭에게 냉각수 공급효과가 시험되었으며 음수 온도는 브로일러의 성장능력을 개선하는 것으로 보고되었다[11]. 저자들은 이전의 연구에서 혹서기 고온스트레스에 노출된 브로일러는 일반환경 조건에서 사육된 닭과 비교하였을 때 사료섭취량 감소 및 체중감소를 보고하였으며, 고온 스트레스 시 역전점등과 함께 폭염저항성 사료의 야간제한급여가 브로일러의 체중 증가량을 개선시킨 것으로 보고하였다[1, 3]. 그러나, 고온 스트레스에 노출된 브로일러에서 혈액지질과 짧은 사슬지방산 변화와 성장능력 증진에 관한 폭염저항성 사료, 역전점등 및 냉각수 공급 사이의 상호작용 효과에 관한 연구는 아직 시작단계에 불과하다.

본 연구는 이와 관련한 후속연구로서 혹서기 고온 스트레스에 노출된 브로일러의 혈액 지질과 짧은 사슬지방산에 관한 역전점등, 냉각수 및 폭염저항성 사료 공급효과를 조사하여 성장능력에 미치는 영향을 평가하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험설계

부화당일 아바이카 병아리 300 수를 한양부화장 (경기 이천)으로부터 공급받았다. 선행연구 결과를 기초로 해서[1, 3] 4처리구, 3반복 (반복 펜 1.65 m<sup>2</sup> 당 25 수)으로 완전임의배치 하였다. T1 (EHD1, 10:00-19:00 소등, 19:00-10:00 점등, 냉각수 9°C), T2 (EHD2, 10:00-19:00 소등, 19:00-10:00 점등, 냉각수 9°C), T3 (EHD1, 09:00-18:00 소등, 18:00-09:00 점등, 냉각수 14°C), T4 (EHD, 09:00-18:00 소등, 18:00-09:00 점등, 냉각수 14°C).

### 2.2. 실험사료, 사양관리 및 성장능력

동물실험을 위한 과학적, 윤리적인 절차는 유럽실험동물취급면허 교재에서 제시된 규정을 준수하였으며[12] 강원대학교 동물실험윤리위원회로부터 승인을 얻었다. 실험 기초사료는 옥수수, 대두박을 비롯한 곡물원료를 이용하여 조단백질과 대사에너지 함량이 동일하도록 조절하였으며 NRC 영양소요구량[13]을 충족 또는 약간 초과하도록 배합하였다(Table 1). EHD1은 곡물원료+대두유 5%+당밀 2%+메티오닌 0.45%+라이신 0.45%, EHD2는 EHD 1에 추가적으로 비타민 C 200 ppm를 혼합해서 제조하였다. EHD에 첨가되는 에너지 급원으로 사용되는 우지는 용점이 낮고 필수지방산을 함유하고 있는 대두유로써 대체 및 이용성과 기호성이 높은 당밀을 추가하였다. 메티오닌, 라이신, 비타민 C를 대조군 사료에서 첨가해주는 수준보다 높게 조절하였으며 EHD 제조 시 영양소 공급원의 첨가에 따른 실제 사료 원료의 구성비는 옥수수의 첨가량을 줄여서 배합하였다. 깔짚으로써 왕겨를 각 펜의 바닥 10 cm 높이로 깔아주었으며 사육실의 온도는 입추당일에서 3일까지는 33°C로 유지하였고 그 다음부터 주당 2~3°C씩 낮췄다. 육계전기 (1-21일) 동안에는 일반환경, 24시간 연속조명과 함께 일반음수 및 일반사료를 자유롭게 섭취토록 하였다. 육계후기 (22-32일) 동안에는 EHD를 급여하였으며 출하 6일 전 (22-27일)에는 일반환경 조건에서 EHD를 무제한 급여하였다. 출하 11일 전 (28-32일)에는 고온 환경 스트레스 부여와 동시에 EHD를 야간 제한급여(18:00-09:00) 하였다. 고온 환경 스트레스 조건은 일일 5시간 (11:00-16:00)씩 고온 스트레스 (33±1°C)와 함

계 상대습도 70%를 유지하면서 점등조절 및 냉각수 급여를 실시하였으며 고온 환경 스트레스를 부여하는 기간에 환기는 실시하지 않았다. 일일 고온 환경 스트레스 실험이 끝나면 환기와 동시에 일반환경을 유지하였다. 실험기간 동안 사료섭취량, 체중을 10일 간격으로 측정, 기록하였으며 전체 기간 중 성장능력을 체중 증가량, 사료섭취량 및 사료효율 (체중 증가량/사료섭취량)로써 나타냈다.

### 2.3. 도계, 조직 및 혈액채취

도계 12시간 전 사료급이를 중단하였고 실험종료 시에 각 처리구로부터 평균 체중에 가까운 브로일러 15마리 (각 펜 당 5마리)를 선별하여 채혈 후 실험동물 안락사 권장에 따라서 경추탈골에 의해 안정적으로 희생하였다[1]. 간, 근위, 흉선, 비장, F낭을 채취하여 생리식염수에 담근 후 여과지를 이용하여 물기를 제거하고 무게를 측정, 기록하였다. 혈액 3 mL를 plain tubes (Greiner Co Ltd, Australia) 속으로 넣고 그 혈액 시료는 4°C에서 20분간 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. -196°C의 액체질소에서 급속동결한 다음 생화학적 분석 시까지 -20°C에서 보관하였다.

### 2.4. 혈액 지질 및 면역물질

혈액 지질, 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-C, HDL-C, 혈당은 효소키트 (Sigma, USA)로 측정하였다. 면역물질 IgG, IgA, IgM 농도는 chicken ELISA kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)를 이용하여 정량하였다. 제조사의 프로토콜에 따라서 처리한 다음 precision microplate reader (Molecular Devices Inc, New York, USA)에 의해서 450nm에서 흡광도를 측정하여 항체량을 계산하였다[1].

### 2.5. 혈액 코르티코스테론

혈액 중의 스트레스 호르몬, Corticosterone은 HS EIA kit (Enzyme immunoassay kit, IDS, Ltd., Boldon, UK)을 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라서 정량하였다[1].

### 2.6. 짧은 사슬지방산

공시 계로부터 맹장을 혐기적인 방법에 의해서 채취하였다. 시료량이 적어 처리구 당 3반복 시료로써 조절하기 위해서 반복 펜 당 5마리의 맹

Table 1. Composition of experimental diets for broiler chickens

Ingredients (% as-fed)	Diets		
	Starter T1-T4 (1-21 days)	Grower T1, T3 (22-32days)	Grower T2, T4 (22-32days)
Yellow corn	52.00	47.70	47.70
Soybean meal, 44% CP	34.00	25.00	25.00
Corn gluten meal	4.70	5.70	5.70
Wheat meal	-	10.00	10.00
Tallow	5.00	-	-
Soy oil	-	5.00	5.00
Molasses	-	2.00	2.00
Limestone	1.25	1.25	1.25
Dicalcium phosphate	1.70	1.70	1.70
Sodium chloride	0.25	0.25	0.25
DL-Met, 50%	0.30	0.45	0.45
L-Lys HCl, 78%	0.30	0.45	0.45
Trace mineral premix <sup>1)</sup>	0.34	0.34	0.34
Vitamin premix <sup>2)</sup>	0.16	0.16	0.16
Vit. C	-	-	0.02
Total	100	100	100
Chemical composition			
ME, kcal/kg	3,100	3,150	3,150
CP, %	22.00	20.00	20.00
Lys, %	1.32	1.15	1.15
Met, %	0.52	0.50	0.50
Met+Cys, %	0.78	0.73	0.73
Ca, %	1.00	0.90	0.90
Available P, %	0.45	0.40	0.40

<sup>1)</sup> Supplied per kilogram of diet: Fe, 80 mg; Zn, 80 mg; Mn, 70 mg; Cu, 7 mg; I, 1.20 mg; Se, 0.30 mg; Co, 0.70 mg.

<sup>2)</sup> Supplied per kilogram of diet: vitamin A (retinyl acetate), 10,500 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 4,100 IU; vitamin E (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate), 45 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 3.0mg; thiamin, 2.5 mg; riboflavin, 5mg; vitamin B<sub>6</sub>, 5mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.02mg; biotin, 0.18mg; niacin, 44mg; pantothenic acid, 17 mg; folic acid, 1.5 mg.

장을 하나로 처리해서 하나의 반복시료로써 이용하였다. 짧은 사슬지방산 (Short chain fatty acid, SCFA)을 Gas chromatographic system (model GC-15A, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)에 의해서 측정하였다[14]. 20 mL 스크류 캡 튜브에 맹장내용물 5 g을 넣고 증류수 5 mL와 혼합하였다. Ultra turrax를 이용하여 균질화 후 4°C 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액 1 mL를 앰플 병으로 옮긴 후 0.2 mL의 25% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 용액을 첨가하여 산성화하였다. 시료를 균질화한 다음에 앰플 병을 30분 이상 얼음 위에서 유지하였다. GC 분석하기 전에 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. GC는 불꽃 이온화검출기와 Chromosorb WAW에 10% SP-1000/1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>으로 충전된 Glass column (180cm×4mm, Supelco, Inc., Bellefonte, PA)가 부착되었으며 칼럼은 운반가스로서 고순도 N<sub>2</sub> (1.8 mL/min)와 함께 100-150°C에서 분석하였다. Flow rate는 33 mL/min이었다[1].

### 2.7. 분변 미생물

각 처리구 당 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러 15마리 (반복 펜 당 5마리)를 선별하여 분변을 채취하였다. 멸균된 생리식염수 (phosphorus buffered saline; PBS 0.1 M, pH 7.0)로 혼합하여 10배 희석 (1:9, wt/vol) 한 다음에 일련의 희석을 계속하였다. 배양은 희석된 10<sup>-2</sup>~10<sup>-7</sup>에서 각각 100 uL를 분주하여 멸균된 평판 선택배지 즉 *Lactobacillus* sp. (MRS agar, Oxoid, Basingstoke, UK), *E. coli* sp. (McConkey purple agar, Difco), Coliform bacteria (Violet red bile agar, Difco), Total aerobic bacteria (Nutrient agar, Difco)에서 실행하였다. *E. coli* sp., Coliform, Total aerobic bacteria는 37°C에서 24시간 호기배양하였고 *Lactobacillus* sp.는 Anaero Gen sachets가 갖춰진 Sealed anaerobic jars를 이용한 혐기상태 하에서 37°C, 48시간 정치배양한 후 각각의 평판배지에서 미생물카운터로써 Colony의 수를 조사하였다. 모든 미생물 군락의 수는 맹장내용물 g당 균수, Colony-forming unit (Cfu)/g of wet of cecum content)로써 상용로그를 취하여 제시하였다[1].

### 2.8. 통계분석

얻어진 모든 자료는 SAS software의 GLM procedure를 사용하여 분산분석하였다. Duncan's multiple range test을 실행한 후 p<0.05에서 자료의 통계적 유의성을 검정하였다[15].

## 3. 결 과

### 3.1. 성장능력

실험기간 동안 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러의 성장능력은 Table 2에서 보는 바와 같다. 전체 기간 중 체중 증가량은 T1, T2가 T3, T4에 비해서 높았으나(p<0.05) T1, T2 사이 및 T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 없었다. T2는 T3, T4과 비교할 때 각각 106.40%, 105.42% 증가하였으며 T1은 T3, T4과 비교할 때 각각 104.89%, 103.92% 증가하였다 (p<0.05). 사료섭취량은 T1, T2, T4, T3 순서로 유의하게 높았으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 전체 기간 중 사료섭취량에서 T3, T4는 T1에 비해서 각각 5.35%, 5.19% 낮아졌고 T2와 비교할 때 각각 2.39%, 2.22% 낮아졌다 (p<0.05). 사료효율은 모든 처리구 가운데서 T2가 가장 높았으나 (p<0.05) 후기 동안 T1, T2, T4 사이의 유의차는 없었으며 총 기간 동안 T1, T2, T4 사이 및 T1, T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 나타나지 않았다.

### 3.2. 조직무게

간, 근위, 면역기관 흉선, 비장, F낭 (Bursa of Fabricius)의 무게는 Table 3에서 보는 바와 같다. 간, 근위는 처리구 사이의 통계적인 유의성이 나타나지 않았다. 면역기관 흉선, F낭은 T1, T2가 T3, T4에 비해서 유의하게 높았으나 (p<0.05). T1, T2 사이 및 T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 없었다.

### 3.3. 혈액 지질

혈액지질 profiles과 혈당 변화는 Table 4에서 보는 바와 같다. 중성지방은 T2, T1, T4, T3 순서로 높게 나타났으며 T3는 T1, T2, T4에 비해서 각각 14.36%, 22.18%, 8.33% 낮았다 (p<0.05). 총콜레스테롤은 T2, T1, T3, T4 순서로 높게 나타났으며 T4는 T1, T2, T4에 비해서 각각 11.90%, 21.75%, 7.33% 낮았다 (p<0.05).

Table 2. Growth performance of broiler chickens exposed to extreme heat stress (g/head)

	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
Days	----- Body weight gain -----			
0-21	1,070±17.17	1,090±13.21	1,087±15.87	1,078±11.50
22-32	732±12.13 <sup>a</sup>	738±11.67 <sup>a</sup>	631±15.41 <sup>b</sup>	656±17.33 <sup>b</sup>
0-32	1,802±13.07 <sup>a</sup>	1,828±12.12 <sup>a</sup>	1,718±18.29 <sup>b</sup>	1,734±13.88 <sup>b</sup>
	----- Feed intake -----			
0-21	1,634±8.81	1,637±9.73	1,629±7.32	1,628±8.66
22-32	1,468±5.90 <sup>a</sup>	1,371±8.75 <sup>b</sup>	1,307±10.18 <sup>c</sup>	1,313±7.11 <sup>c</sup>
0-32	3,102±5.92 <sup>a</sup>	3,008±8.44 <sup>b</sup>	2,936±7.03 <sup>c</sup>	2,941±5.24 <sup>c</sup>
	----- Feed efficiency ratio -----			
0-21	0.65±0.07	0.67±0.09	0.67±0.03	0.66±0.01
22-32	0.50±0.06 <sup>b</sup>	0.54±0.03 <sup>a</sup>	0.49±0.03 <sup>b</sup>	0.50±0.05 <sup>b</sup>
0-32	0.59±0.03 <sup>ab</sup>	0.61±0.04 <sup>a</sup>	0.58±0.05 <sup>b</sup>	0.59±0.07 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup>T1;EHD(extreme heat diet) 1, 9D:15L(10:00-19:00dark, 19:00-10:00 light) with drinking water 9°C.

T2;EHD(extreme heat diet) 2, 9D:15L(10:00-19:00dark, 19:00-10:00 light) with drinking water 9°C.

T3; EHD(extreme heat diet) 1, 9D:15L(09:00-18:00 dark, 18:00-09:00 light) with drinking water 14°C.

T4; EHD(extreme heat diet) 2, 9D:15L(09:00-18:00 dark, 18:00-09:00 light) with drinking water 14°C.

<sup>a,b,c</sup>p<0.05.

Table 3. Changes in weight of lymphoid organs in broiler chickens exposed to extreme heat stress

Item	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
Liver	3.19±0.24	3.21±0.11	3.19±0.17	3.20±0.20
Thymus	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.20±0.03 <sup>a</sup>	0.17±0.03 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>
Spleen	0.19±0.02 <sup>a</sup>	0.19±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>b</sup>	0.17±0.02 <sup>b</sup>
Bursa of Fabricius	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.17±0.03 <sup>b</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>
Gizzard	1.90±0.13	1.91±0.11	1.88±0.17	1.90±0.15

<sup>1</sup>The same as Table 2.<sup>2</sup>Liver, gizzard is % weight against body weight. Thymus, spleen, bursa of Fabricius is % weight against carcass weight. <sup>a,b</sup>p<0.05.

Table 4. Serum lipid and glucose levels in broiler chickens exposed to extreme heat stress (mg/dL)

Item	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
Triglyceride	112.5±3.88 <sup>b</sup>	123.8±4.22 <sup>a</sup>	96.35±2.17 <sup>d</sup>	101.9±2.37 <sup>c</sup>
Total cholesterol	121.81±5.07 <sup>b</sup>	137.15±5.70 <sup>a</sup>	115.81±4.01 <sup>c</sup>	107.32±3.85 <sup>d</sup>
LDL-C	44.17±3.22 <sup>c</sup>	36.56±3.60 <sup>d</sup>	72.74±2.98 <sup>a</sup>	67.01±2.03 <sup>b</sup>
HDL-C	75.68±3.18 <sup>b</sup>	85.17±5.35 <sup>a</sup>	39.01±5.88 <sup>c</sup>	34.77±6.18 <sup>c</sup>
Glucose	171.05±5.07 <sup>b</sup>	190.13±6.07 <sup>a</sup>	146.72±4.87 <sup>c</sup>	137.78±2.81 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>The same as Table 2. <sup>a,b,c,d</sup>p<0.05.

Table 5. Serum immunoglobulin and corticosterone levels in broiler chickens exposed to extreme heat stress ( $\mu$ g/mL)

Item	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
IgG	200.7±3.01 <sup>b</sup>	231.5±2.55 <sup>a</sup>	150.3±3.71 <sup>d</sup>	171.7±2.84 <sup>c</sup>
IgA	67.44±2.80 <sup>a</sup>	55.41±3.17 <sup>b</sup>	30.15±3.01 <sup>c</sup>	28.88±2.91 <sup>d</sup>
IgM	97.11±3.32 <sup>a</sup>	98.15±4.18 <sup>a</sup>	40.18±2.82 <sup>b</sup>	31.75±2.77 <sup>c</sup>
Corticosterone	44.41±3.94 <sup>c</sup>	33.51±4.01 <sup>d</sup>	130.17±3.80 <sup>a</sup>	115.17±4.21 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>The same as Table 2. <sup>a,b,c,d</sup>p<0.05.

LDL-C는 T3, T4, T1, T2 순서로 높았으며 T3은 T1, T2, T4에 비해서 각각 164.68%, 198.96%, 108.55% 높았다 (p<0.05). HDL-C는 T2, T1, T3, T4 순서로 높았으며 T2는 T1, T3, T4에 비해서 각각 112.54%, 218.33%, 244.95% 높았다 (p<0.05). 혈당은 T2, T1, T3, T4 순서로 높았으며 T3은 T1, T2에 비해서 각각 14.22%, 22.83% 낮았으며 T4는 T1, T2, T3에 비해서 각각 19.45%, 27.53%, 6.09% 낮았다 (p<0.05).

#### 3.4. 혈액 면역물질과 스트레스호르몬

혈액 면역물질과 스트레스호르몬, 코르티코스테론의 농도는 Table 5에서 보는 바와 같다. IgG은 T2, T1, T4, T3 순서로 높았으며 T2는 T1, T3, T4에 비해서 각각 115.35%, 154.04%, 134.830% 더 높게 나타났으며 각 처리구간 통계적 유의성이 인정되었다 (p<0.05). IgA는 T1, T2, T3, T4 순서로 높았고 T1은 T2, T3, T4에 비해서 각각 121.71%, 223.68%, 233.52% 증가하였다 (p<0.05). IgM은 T2, T1, T3, 4 순서로 유의하게 높은 경향을 나타냈으나 (p<0.05) T1,

T2 사이의 통계적인 유의성은 없었다. T1은 T3, T4에 비해서 각각 241.69%, 305.86%, T2는 T3, T4에 비해서 각각 244.28%, 309.13% 높았다. 코르티코스테론의 농도는 T3, T4, T1, T2 순서로 높았으며 각 처리구 간 통계적 유의성이 인정되었다 (p<0.05). T2는 모든 처리구 가운데서 가장 낮았으며 T1, T3, T4와 비교할 때 각각 24.54%, 74.26%, 70.90% 낮아졌다.

#### 3.5. 분변 미생물

고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에서 조사한 분변 중 미생물 변화는 Table 6에 나타났다. *Lactobacillus*는 T2, T1, T3, T4 순서로 높았으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 없었다. T2는 T1, T3, T4에 비해서 각각 104.56%, 126.54%, 128.16% 증가하였다. Total aerobic bacteria는 T4, T3, T1, T2 순서로 높게 나타났으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 유의성은 없었다. T2에서 가장 낮은 경향을 보였으며 T1, T3, T4와 비교할 때 각각 10.59%, 34.49%, 35.24% 낮았다. *E. coli*는 T3, T4, T1, T2 순서

Table 6. Changes in the fecal microflora of broiler chickens exposed to extreme heat stress (log<sub>10</sub>cfu/g feces)

Item	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
Total aerobic bacteria	4.44±0.33 <sup>b</sup>	3.97±0.18 <sup>c</sup>	6.06±0.27 <sup>a</sup>	6.13±0.21 <sup>a</sup>
<i>Lactobacillus</i>	8.77±0.11 <sup>b</sup>	9.01±0.25 <sup>a</sup>	7.12±0.16 <sup>c</sup>	7.03±0.10 <sup>c</sup>
<i>E. coli</i>	4.01±0.17 <sup>b</sup>	3.51±0.22 <sup>c</sup>	4.80±0.28 <sup>a</sup>	4.77±0.15 <sup>a</sup>
<i>Salmonella</i>	3.77±0.11	3.73±0.21	3.80±0.51	3.69±0.13
Coliform bacteria	5.02±0.13 <sup>b</sup>	5.10±0.31 <sup>b</sup>	5.80±0.18 <sup>a</sup>	5.78±0.25 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>The same as Table 2. <sup>a,b,c</sup>p<0.05.

Table 7. Concentrations of short chain fatty acid (SCFA) in the cecal contents of broiler chickens exposed to extreme heat stress (μmol/g of cecum content)

SCFA	Groups <sup>1</sup>			
	T1	T2	T3	T4
Acetic acid	125.3±0.21 <sup>b</sup>	137.7±0.23 <sup>a</sup>	101.3±0.22 <sup>c</sup>	98.7±0.12 <sup>d</sup>
Propionic acid	96.27±0.27 <sup>a</sup>	95.88±0.33 <sup>a</sup>	59.07±0.21 <sup>b</sup>	53.44±0.30 <sup>c</sup>
Butyric acid	8.73±0.23 <sup>d</sup>	11.31±0.21 <sup>c</sup>	17.18±0.32 <sup>b</sup>	20.01±0.21 <sup>a</sup>
Isobutyric acid	3.74±0.10 <sup>c</sup>	5.01±0.22 <sup>b</sup>	8.31±0.10 <sup>a</sup>	8.81±0.33 <sup>a</sup>
Valeric acid	0.97±0.12 <sup>c</sup>	1.39±0.12 <sup>b</sup>	3.37±0.28 <sup>a</sup>	3.67±0.10 <sup>a</sup>
Isovaleric acid	1.75±0.11 <sup>b</sup>	1.08±0.10 <sup>c</sup>	2.95±0.10 <sup>a</sup>	2.90±0.18 <sup>a</sup>
Total SCFA	236.8±0.20 <sup>b</sup>	252.4±0.17 <sup>a</sup>	192.2±0.28 <sup>c</sup>	187.5±0.21 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>The same as Table 2. <sup>a,b,c,d</sup>p<0.05.

로 높았으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 특히, T2는 T1, T3, T4와 비교할 때 각각 12.47%, 26.88%, 26.42% 낮았다. Coliform bacteria는 T3, T4, T2, T1 순서로 높게 나타났으나 (p<0.05) T1, T2 사이 및 T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 없었다. T1은 T2, T3, T4와 비교할 때 각각 1.57%, 13.45%, 13.15% 낮았다

### 3.6. 짧은 사슬지방산

닭의 맹장에서 측정된 짧은 사슬지방산 함량의 변화는 Table 7에 나타났다. 프로피온산에서 T1, T2 사이가 서로 비슷하였음을 제외하면 총 짧은 사슬지방산과 초산은 T2, T1, T3, T4 순서로 유의하게 높게 나타났다 (p<0.05). 기타 짧은 사슬 지방산은 각 처리구 사이의 통계적인 유의차가 인정되었다 (p<0.05). T2는 T1, T3, T4에 비해

서 초산 109.90%, 135.93%, 139.51%, 총 짧은 사슬지방산 106.59%, 131.32%, 134.61% 각각 높은 경향을 보였다. T2에서 프로피온산은 T3, T4에 비해서 각각 162.31%, 179.42% 높았다. 뷰티르산은 T4, T3, T2, T1 순서로 유의하게 높게 나타났으며 T1은 T2, T3, T4와 비교할 때 각각 22.81%, 49.18%, 56.37% 감소하였다 (p<0.05). 이소뷰티르산은 T4, T3, T2, T1 순서로 높았으나(p<0.05) T3, T4 사이의 통계적인 유의성은 없었다. T1은 T2, T3, T4에 비해서 각각 25.35%, 54.99%, 57.55% 감소하였다. 발레르산은 T4, T3, T2, T1 순서로 높게 나타났으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 유의성은 없었다. T1은 T2, T3, T4와 비교할 때 각각 30.21%, 71.22%, 73.57% 낮아졌다. 이소발레르산은 T3, T4, T1, T2 순서로 높게 나타났으나 (p<0.05) T3, T4 사이의 유의성은 없었다. T2는 T1, T3, T4와 비교

할 때 각각 38.28%, 63.39%, 62.76% 감소하였다.

#### 4. 고 찰

본 결과는 혹서기 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에게 역전점등, 냉각수 및 폭염저항성 사료를 공급해주면 혈액 지질과 혈당 소모량 감소에 의한 에너지 대사조절 및 면역능력을 높여줌으로써 성장능력을 개선할 수 있다는 새로운 사실을 발견하였다. 체중 증가량은 T1, T2가 T3, T4에 비해서 높았고 특히, T2는 가장 높았으나 T1, T2 사이 및 T3, T4 사이의 유의성은 없었던 점을 관찰하였다. 선행연구에서 EHD 2에 함유되었던 비타민 C의 효과로 EHD 1에 비해서 체중 증가량이 높았으나[1, 7] 본 연구에서 이러한 차이는 나타나지 않았다. 저자 등은 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에게 일반음수 공급, EHD2를 급여함과 동시에 역전점등을 실행했을 때 성장능력이 향상되는 것으로 보고하였다[1, 3, 4]. T1, T2는 고온 환경 스트레스에 노출되기 1시간 전부터 노출 후 3시간 동안 주간소등을 실시함과 동시에 9°C 냉각수를 공급하였으나 T3, T4는 고온 환경 스트레스 전 2시간부터 노출 후 2시간 동안 주간소등을 실시함과 동시에 14°C 냉각수를 공급해주었다. 결과적으로 고온 환경 스트레스 하에서 주간소등 및 야간 제한급여로 인한 활동감소 및 대사열 발생 감소로써 체온상승을 억제하였을 것으로 볼 수 있다. 고온 환경 스트레스 하에서 냉각수 공급으로 인한 체온상승을 억제함과 동시에 노출후 1시간 더 많은 소등으로 충분한 휴식을 취하게 해준 점은 브로일러의 성장능력에 매우 중요하게 작용한 것으로 본다. 출하 11일 전에 폭염저항성 사료를 섭취함으로써 고온피해 저항성 영양소의 흡수, 이용 및 생체내 축적율을 높여서 고온 환경에 노출되었을 때 저항능력을 강화시켜준 것으로 생각할 수 있다 [1]. 고온 환경 스트레스하에서 24시간 연속조명은 빛에 의한 체온상승과 함께 섭취한 사료 영양소의 생체 대사열 발생증가에 의해서 체온의 급격한 상승을 초래하기 때문에 역전점등을 실시해주는 것이 바람직하다[1, 3, 4]. 사료섭취량은 T1, T2가 T4, T3에 비해서 높게 나타났으며 이는 이전의 보고와 일치하는 결과이다[1]. 열 스트레스 하에서 브로일러의 체중 증가량 및 사료섭취량은 체온과 관련이 있으며 21°C와 비교할 때

32°C의 열스트레스에 노출될 경우 급격한 체온 상승으로 인하여 브로일러의 체중 증가량과 사료 효율은 낮아지는 것으로 보고되었다[16-19]. 대두유는 우지에 비해서 용점이 낮고 필수지방산을 함유함과 동시에 에너지 이용율과 기호성이 높을 뿐만 아니라 당밀과 함께 사료섭취를 자극하는데 도움이 될 수 있다[6, 20]. 고온 환경 스트레스 하에서 단백질 수준을 높여주면 생체 대사과정에서 아미노산으로 분해될 때 오히려 더 많은 대사열을 발생하기 때문에 메치오닌, 라이신과 같은 필수아미노산을 높여주는 것이 도움이 된다 [21-24]. 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에게 비타민 C의 공급은 신체 영양소 특히, 에너지 저장에 영향하며 대사열을 유지함으로써 혈액 코르티코스테론을 낮추고 사양성적을 개선할 수 있음이 보고되었다[25-26]. 비타민 C는 항산화, 면역, 심장과 혈관을 튼튼하게 해줌과 동시에 콜라겐의 생합성에 중요한 성분으로써 열 스트레스를 최소화 하는데 도움이 된다[7, 27]. 고온피해 저항성사료를 구성하는 영양소들은 동물의 생체 이용율이 높기 때문에 면역기관 발육을 자극하여 혈액 IgG, IgA, IgM의 분비량을 높임과 동시에 스트레스 호르몬, corticosterone의 농도를 낮추는데 기여하였을 것으로 생각된다[1, 28]. T2의 체중이 T1과 비슷하였고 T3, T4와 비교할 때 유의하게 높았던 점은 맹장에서 총 짧은 사슬지방산, 초산, 프로피온산의 생성이 증가한(Table 6) 점과 관련이 있을 것으로 생각한다. 결과적으로 건강에 유익한 *Lactobacillus*의 성장을 자극함과 동시에 유해한 미생물의 성장이 억압됨으로써 장내 균총이 유지되었고(Table 5) 혈청 IgG, IgA, IgM의 농도증가(Table 4)로 인한 면역능력을 부여받은 상태에서 고온 환경 스트레스에 노출된 동물의 건강이 증진되었을 것으로 생각할 수 있다.

T3, T4 브로일러에서 고온 환경에 노출된 결과로써 혈액 지질함량이 유의하게 낮아짐을 관찰하였다. 이러한 결과는 열 스트레스에 의해서 사료섭취량이 감소하며 이에 의하여 에너지 대사원으로써 빠르게 이용되는 생체 지질감소에 관한 adrenocorticotropin (ACTH)의 작용일 것으로 생각할 수 있으며 저자 등의 선행 보고와 일치하였다[1, 3, 29]. Mumma 등[29]은 산란계에서 스트레스 반응은 ACTH의 연속주입에 의해서 조절되며 혈액 콜레스테롤, HDL 및 혈당은 ACTH에 의해서 증가되지만 중성지방은 감소한다고 보고하여 본 결과를 부분적으로 지지해준다.

면역세포 발육 및 혈액 면역물질 IgG, IgA, IgM은 T1, T2가 T3, T4에 비해서 높았으며 이는 궁극적으로 T3, T4와 비교할 때 스트레스 호르몬, corticosterone을 낮출 수 있었다. 이러한 결과는 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에게 역전점등 및 냉각수를 공급해줌으로써 광 자극 및 체온상승에 따른 스트레스 민감도를 낮춤으로써 면역능력을 향상시켜준 것으로 생각할 수 있다. 고온 환경 스트레스에 노출된 후 T3, T4에 비해서 1시간 더 연장된 소등으로 인하여 충분한 휴식을 취한 닭에서 스트레스 회복 후 면역물질을 분비하는 면역기관 세포증식에 필요한 영양소가 충분히 공급되었을 것으로 볼 수 있다 [30-31]. T1, T2에서 IgG, IgA, IgM이 증가한 점은 *Lactobacillus* 증가에 의한 면역능력의 자극으로 볼 수 있으며 T3, T4에서 IgG, IgA, IgM이 감소한 점은 폭염에 의해서 체액성면역 능력이 억압되었음을 의미한다. *Lactobacillus* sp.와 *Bifidobacteria*는 유의한 균으로써 널리 알려져 있으며 이러한 균들은 소장으로부터 유입된 미분해 영양소를 발효시켜 에너지 공급, 지질대사 개선 및 면역능력을 자극하는 것으로 알려졌다 [32-33]. 본 연구에서는 *Bifidobacteria*의 변화는 조사하지 못했다. 면역단백질은 골수의 B-cell에서 만들어지며 체액성면역의 지표가 되는 IgG는 혈액 중 90% 이상을 차지한다. 브로일러에서 IgG, IgA, IgM은 포유동물의 면역단백질과 생물학적 특성이 비슷하다 [34]. 동물에서 흉선, 비장은 항체생산을 위한 중요한 기관이며 특히 조류의 면역기관은 F낭이 포함된다. 이러한 브로일러의 면역기관은 IgM을 IgG로 전환시키거나 IgA의 작용을 활성화 시키는데 필수적이다 [35]. 따라서 높아진 혈액 IgG, IgA, IgM 농도에 기인한 스트레스 호르몬, corticosterone의 감소 역시 고온 환경 스트레스 하에서 발견된 림프기관의 회귀결과일 것으로 볼 수 있다. 면역기관의 발육은 면역체계 기능성의 기초가 되며 F낭은 B-림프구의 발달 및 기능적인 성숙연구에 사용된다 [36-37].

본 결과, T1, T2에서 *Lactobacillus*의 증가는 짧은 사슬 지방산 및 면역물질을 증가시켜서 브로일러의 성장을 향상시키는 경향을 갖는 것으로 사료된다. 브로일러의 과학적인 절차 실험에서 이들 변수 측정결과는 대조군과 상대적인 비율을 비교하여 그 결과를 해석할 수 있으며 이와 관련한 절대적인 통계 기준치는 알려져 있지 않다. 역전점등, 냉각수와 함께 폭염저항성 사료를 공급

한 T1, T2에서 숙주동물에게 유익한 초산, 프로피온산 등의 짧은 사슬지방산이 높아졌고 동물의 장 기능 활성화에 유익한 *Lactobacillus*가 증가한 점은 유해한 *E. coli*, coliform, total aerobic bacteria가 감소한 점과 관련이 있는 것으로 볼 수 있다 [38]. *Lactobacillus*는 *E. coli* 등 유해균의 성장을 억압하는 박테리오신을 분비하며 유익균이 충분히 서식할 수 있도록 장 환경을 개선해주는 짧은 사슬지방산을 생성한다. 따라서 *Lactobacillus*의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산, 젖산과 함께 초산, 프로피온산은 유해균에 의한 장 균락화를 억압할 수 있다 [39-42]. T1, T2에서 나타난 맹장 *E. coli*, coliform, total aerobic bacteria가 유의하게 낮아진 이유는 바로 이러한 기전의 일부라고 생각된다. 동물의 소화관에서 미생물은 발효산물을 생합성 해서 장 상피세포의 발육에 필요한 에너지를 공급해주고 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 그리고 외인성 병원균의 균락화에 대한 저항성을 나타낸다는 점에서 매우 중요하다 [43].

## 5. 결론

본 연구결과는 혹서기 무창계사에서 고온 환경 스트레스에 노출된 브로일러에게 역전점등 (10:00-19:00 소등, 19:00-10:00 점등), 9°C의 냉각수와 함께 폭염저항성 사료를 야간 제한급여 해주면 성장능력을 개선할 수 있다는 새로운 사실을 발견하였다. 이는 역전점등으로 인한 낮 동안의 활동량 감소 및 주간 절식으로 인한 대사열 발생량 감소, 냉각수 공급에 의한 체온상승을 억제하고 폭염저항성 사료의 야간 제한급여로 인한 고온 환경 스트레스 저항성을 높여줌과 동시에 특히 혈액 지질과 맹장의 짧은 사슬지방산 조절에 의한 작용기전으로 나타났다.

## 감사의 글

본 연구는 2013년도 농촌진흥청 아젠다사업, 강원대학교 학술연구조성비 (과제번호 120131292) 및 2013년도 강원대학교 포스트닥 연구비로 수행하였으며 이에 감사드립니다.

## References

1. S. O. Park, H. W. Jong, B. S. Park, and H. C. Choi, Effects of inverse lighting and extreme heat diet on short chain fatty acid and blood lipid profile in extreme heat stress-exposed broilers, *J. of Korean Oil Chemists' Soc*, 30, 400-410 (2013).
2. W. M. Quinteiro-Filho, A. Ribeiro, V. Ferraz-de-Paula, M. L. Pinheiro, M. Sakai, L. R. M. Sá, A. J. P. Ferreira and J. Palermo-Neto, Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens, *Poult. Sci*, 89, 1905-1914 (2010).
3. J. S Yoon, H. K. Kang, S. O. Park, B. S. Park, J. Hwangbo, O. S. Seo, H. S. Chae, H. C. Choi, and Y. H. Choi, Effects of inverse lighting and diet with soy oil on growth performance and short chain fatty acid of broiler exposed to extreme heat stress, *J. of Korean Oil Chemists' Soc*, 30, 127-138 (2013).
4. S. O Park, J. Hwangbo, B. S. Park, H. K. Kang, O. S. Seo, H. S. Chae, H. C. Choi, and Y. H. Choi, Effects of extreme heat stress and continuous lighting on growth performance and blood lipid in broiler chickens, *J. of Korean Oil Chemists' Soc*, 30, 78-87 (2013).
5. H. A. Olanrewaju, J.P. Thaxton, W.P. Dizier, J. Pursuel, W.B. Roush, and S.L. Branton, A review of lighting programs for broiler production, *Int. J. Poult. Sci*, 5, 301-308 (2006).
6. S. D. Sharifi, A. Dibamehr, H. Lotfollahian, and B. Baurhoo, Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens, *Poult. Sci*, 91, 918-927 (2012).
7. S. Leeson, and J. D. Summers, Commercial poultry nutrition. University books. Guelph. Ontario. NIH 6N8, Canada. (1991).
8. S. Özkan, S. Yalç ın, E. Babacanoğlu, H. Kozanoğlu, F. Karadaş, and S. Uysal, Photoperiodic lighting (16 hours of light:8 hours of dark) programs during incubation: 1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens, *Poult. Sci*, 91, 2912-2921 (2012).
9. G. S. Archer, H. L. Shivaprasad, and J. A. Mench, Effect of providing light during incubation on the health, productivity, and behavior of broiler chickens, *Poult. Sci*, 88, 29-37 (2009).
10. M. Sahraei, Feed restriction in broiler chickens production: A review. *Global Veterinaria*, 8, 449-458 (2012).
11. L. D. G. Bruno, A. Maiorka, M. Macari, R. L. Furlan, and P. E. N. Givisiez, Water intake behavior of broiler chickens exposed to heat stress and drinking from bell or and nipple drinkers, *Brazilian J. Poult. Sci*, 13, 147-152 (2011).
12. Scot PIL training manual. Glasgow Univ, UK. (1994).
13. National Research Council, Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. (1994).
14. W. F. Zhang, D. F. Li, W. Q. Lu, and G. F. Yi, Effects of isomalto oligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora, *Poult. Sci*, 82, 657-663 (2003).
15. SAS, SAS/STAT User's Guide: Statistics. *SAS Inst. Inc*, Cary, NC. (2004)
16. M. A. Cooper, and K. W. Washburn, The relationships of body temperature to weight gain, feed consumption, and feed utilization in broilers under heat stress, *Poult. Sci*, 77, 237-242 (1998).
17. R. E. Austic, Feeding poultry in hot and cold climates. Pages 123-136 in *Stress physiology in livestock*. Vol. 3. M. K. Yousef. ed. CRC press. Boca Raton. FL. (1985).
18. P. A. Geraert, J. C. F. Padilha, and S.

- Guillaumin, Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chicks: Growth performance, body composition and energy retention, *Br. J. Nutr.*, 63, 1697-1702 (1996).
19. Y. Guo, G. Zhang, J. Yuan, and W. Nie, Effect of source and level of magnesium and vitamin E on prevention of hepatic peroxidation and oxidative deterioration of broiler meat, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 107, 143-150 (2003).
  20. J. P. Jacob, and C. A. Carter, Inclusion of buckwheat in organic broiler diets, *J. Appl. Poult. Res.*, 17, 522-528 (2008).
  21. A. A. Mendes, S. E. Watkins, J. E. England, E. A. Saleh, A. L. Waldroup, and P.W. Waldroup, Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age, *Poult. Sci.*, 76, 472-481 (1997).
  22. R. Gonzalez-Esquerria, and S. Leeson, Effect of arginine:lysine ratios and source of methionine on growth and body protein accretion in acutely and chronically heat-stressed broilers, *Poult. Sci.*, 85, 1594-1602 (2006).
  23. C. D. Knight, C. W. Wuelling, C. A. Atwell, and J. J. Dibner, Effect of intermittent periods of high environmental temperature on broiler performance responses to sources of methionine activity, *Poult. Sci.*, 73, 627-639 (1994).
  24. H. Willemsen, Q. Swennen, N. Everaert, P. A. Geraert, Y. Mercier, A. Stinckens, E. Decuyper, and J. Buyse, Effects of dietary supplementation of methionine and its hydroxy analog dl-2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid on growth performance, plasma hormone levels, and the redox status of broiler chickens exposed to high temperatures, *Poult. Sci.*, 90, 2311-2320 (2011).
  25. S. Temim, A. M. Chagneau, S. Guillaumin, J. Michel, R. Peresson, and S. Tesseraud, Does excess dietary protein improve growth performance and carcass characteristics in heat-exposed chickens, *Poult. Sci.*, 79, 312-317 (2000).
  26. J. S. McKee, P. C. Harrison, and G. L. Riskowski, Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal, *Poult. Sci.*, 76, 1278-1286 (1997).
  27. Boyera, L. Galey, B. A. Bernard, Effect of vitamin C and its derivatives on collagen synthesis and cross-linking by normal human fibroblasts, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 20, 151-158 (1998).
  28. A. Y. Han, M. H. Zhang, X. I. Zuo, C. F. Zhao, J. H. Feng, and C. Cheng, Effect of acute heat stress on calcium concentration, proliferation, cell cycle, and interleukin-2 production in splenic lymphocytes from broiler chickens, *Poult. Sci.*, 89, 2063-2070 (2010).
  29. J. O. Mumma, J. P. Thaxton, Y. Vizzier-Thaxton, and W. L. Dodson, Physiological stress in laying hens, *Poult. Sci.*, 85, 761 (2006).
  30. J. R. Bartlett, and M. O. Smith, Effect of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress, *Poult. Sci.*, 82, 1580-1588 (2003).
  31. S. Singh, H. Sodhi, and R. Kaur, Effects of dietary supplements of selenium, vitamin E or combination of the two on antibody response of broilers, *Br. Poult. Sci.*, 47, 714-719 (2006).
  32. P. D. Schley, and C. J. Field, The immune-enhancing effects of dietary fibers and prebiotics, *Br. J. Nutr.*, 87, S221-S230 (2002).
  33. S. O. Park, and B. S. Park, Effect of dietary inuloprebiotics on performance, serum immunoglobulin and caecal microflora in broiler chickens, *Kor. J. Organic Agric.*, 17, 539-555 (2009).
  34. D. A. Higgins, Physical and chemical

- properties of fowl immunoglobulins, *The Vet. Bull.*, 45, 139–154 (1975).
35. J. Bienenstock, J. Gauldie, and D. Y. E. Perey Synthesis of IgG, IgA, IgM by chicken tissues: Immunofluorescent and <sup>14</sup>C amino acid incorporation studies, *The J. Immun.*, 111, 1112–1118 (1973).
  36. Y. W. Wang, C. J. Field, and J. S. Sim, Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks, *Poult. Sci.*, 79, 1742–1748 (2000).
  37. B. Tizard, The avian antibody response, *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11, 2–14 (2002).
  38. S. Devaraj, S. Vega-Lopez, N. Kaul, F. Schonlau, P. Rohdewald, and I. Jialal, Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile, *Lipids*, 37, 931–934 (2002).
  39. G. R. Gibson, and X. Wang, Bifidogenic properties of different types of fructo oligosaccharides, *Food Microbiol.*, 11, 491–498 (1994).
  40. G. R. Gibson, E. R. Bead, X. Wang, and J. H. Cummings, Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofluctose and inulin, *Gastroenterology*, 108, 975–982 (1995).
  41. J. Gong, R. J. Forster, H. Yu, J. R. Chambers, P. M. Sabour, R. Wheatcroft, and S. Chen, Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken ceca and comparison with bacteria in the cecal lumen, *FEMS Microbiol. Lett.*, 208, 1–7 (2002).
  42. Z. R. Xu, C. H. Hu, and M. O. Wang, Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatoleandindole by mixed populations of pig fecal bacteria, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 48, 83–89 (2002).
  43. M. R. Shakibaie, K. A. Jalilzadeh, and S. M. Yamakanamardi, Horizontal transfer of antibioticresistance gene among gram negative bacteria in sewage and lake water and influence of some physico-chemical parameters of water on conjugation process, *J. Environ. Biol.*, 30, 45–49 (2009).