



γ-Aminobutyric Acid 및 생균제 급여가 여름철 육용 종계의 계란 품질 및 혈액 성상에 미치는 영향

고유돈¹ · 김지현¹ · 성하균^{2*}

¹상지대학교 동물자원과학과 대학원생, ²상지대학교 동물자원과학과 교수

Effect of γ-Aminobutyric Acid and Probiotics on the Egg Quality, Blood Parameter, Stress Level in Broiler Breeder

Yoo Don Ko¹, Ji Heon Kim¹ and Ha Guyn Sung^{2*}

¹Graduate Student, Department of Animal Science, Sangji University, Wonju 26339, Republic of Korea

²Professor, Department of Animal Science, Sangji University, Wonju 26339, Republic of Korea

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of γ-aminobutyric acid (GABA) and a probiotic mixture on egg quality, blood parameters, and corticosterone content in broiler breeder stock in summer in Korea. A total of 72 broiler breeders (Arbor Acres) at 49 weeks old were randomly divided into the following three groups of 24 heads each: control, GABA, and probiotics (1×10^8 /g *Bacillus licheniformis*, 1×10^7 /g *Lactiplantibacillus plantarum*, and 1×10^7 /g *Clostridium butyricum*). The hens were fed a diet containing 50 mg of GABA/kg of feed and 0.1% probiotics for 6 weeks. Egg quality, blood parameters, and stress levels (corticosterone concentration) of the broiler breeders were evaluated. No significant differences were observed in the egg weight, albumen height, Haugh units, yolk color, shell thickness, or shell strength between the groups. There were no significant between-group differences in the blood biochemical profile, including total cholesterol, triglyceride, glucose, total protein, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, albumin, and inorganic phosphorus concentrations. The corticosterone concentration was significantly lower in the GABA and probiotics groups than the control group ($P < 0.05$) at 6 weeks of age. In conclusion, these results suggest that dietary probiotics and GABA significantly improve the stress levels of broiler breeders in summer in Korea.

(Key words: broiler breeder, summer, γ-aminobutyric acid, probiotics, stress)

서 론

국내 육용종계는 2021년 3분기 기준 약 1,589천수를 사육하고 있으며, 닭 사육수수 중 약 1.2%를 차지하고 있다. 또한 육용종계의 건강은 효율적인 번식 그리고 육계의 높은 생산성 및 건강에 영향을 주어 육계 산업(닭고기 시장)에 큰 영향을 미친다.

여름철 고온은 많은 가금 농가에 문제를 발생시킨다. 육용 종계는 산란계나 육성계보다 체중이 높아 여름철 고온기에 피해가 더욱 크다. 그리고 고온 스트레스는 산란 후기 육용 종계의 산란율 및 수정율 저하를 가져올 뿐만 아니라 심

할 경우 대량 폐사를 일으켜 경제적으로 피해를 주고 있다 (St-Pierre et al., 2003). 가금류는 땀샘이 없고 깃털이 있어 고온 환경에서 체온 조절하는 능력이 부족하여 다른 가축보다 평균 체온이 높다(Mashaly et al., 2004; Xie et al., 2015). 이러한 이유로 우리나라 여름철 날씨는 닭에게 스트레스를 주어 산란율 저하, 난중 감소, 계란 품질 저하, 난각 강도 감소, 면역 감소 및 비정상적인 대사 작용 등 부정적인 영향을 가져 온다(Mashaly et al., 2004). 육용 종계 역시 여름철 고온 스트레스로 인해 산란율 저하는 물론, 부화율 및 수정율에 부정적인 영향을 미치게 된다. 또한 고온 시기에 발생한 육계의 경우 비정상적 대사 작용과 스트레스로 인해 먼

* To whom correspondence should be addressed : haguyn@hanmail.net

역과 생장에 영향을 줄 수 있다(Bowling et al., 2018).

국내외 가금산업에서는 이러한 고온 스트레스에 따른 생산성 감소 등 부정적인 영향을 예방하기 위해 다양한 사료 첨가제를 사용하고 있다(Khan et al., 2011). 특히, 고온 스트레스 감소를 위해 주로 사용되는 대표적인 사료첨가제 종류로는 비타민, γ -aminobutyric acid(GABA), 미네랄, 생균제, 필수 아미노산 및 항산화제 등이 있다(Khan et al., 2011). 그 중 4개의 탄소로 이루어진 비단백질 아미노산인 GABA는 자연에 널리 분포하고 있어 흔히 볼 수 있는 물질이다(Zhang et al., 2012; Hu et al., 2015). GABA는 포유류의 중추 신경계에서 억제성 신경물질로서 중요한 역할을 하고 있으며, 특히 체온 조절 등의 생리 기능에 관여한다(Jha et al., 2001). GABA는 고온 스트레스 등 환경에서 혈압을 낮추어 면역 기능을 향상시키며, 스트레스를 완화시키고, 사료 소비 행동을 조절하는 것으로 알려져 있다(Hu et al., 2015). 생균제(Probiotics) 또한 가금류 산업에서 닭의 건강 개선과 스트레스를 감소시키기 위한 첨가제로 사용되고 있다(Panda et al., 2003). 생균제는 동물의 장내 미생물 균형을 개선하여 장벽 기능을 강화시켜, 숙주 건강에 긍정적인 역할을 한다(Fuller, 1989). 또한 면역기능 증가를 통하여 고온 스트레스를 받는 닭의 생산성, 계란 품질 및 대사 작용에 긍정적 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Jahanian et al., 2016).

그러나 우리나라 여름철 날씨에 GABA 및 생균제 첨가에 의하여 육용 종계에 미치는 영향에 대한 연구가 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 육용 종계의 계란 품질, 혈액 생화학적 성상 및 스트레스 호르몬에 GABA와 생균제가 미치는 영향에 대하여 알아보기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물 및 시험설계

공시계는 49주령 육용 종계 암탉(Arbor Acres) 72수(1수/cage)를 무첨가구, GABA구 및 생균제구 3개 처리로 구분

하였고, 각 처리구별 8반복으로 반복당 3수씩 배치하여 실험을 6주간 실시하였다. 실험구별 실험계는 실험 실시 1주 전 예비 사육을 통해 산란율 등을 동일한 수준으로 배치하였고, 케이지당(72 × 45 × 38 cm) 3수씩 사육하였다. GABA구는 GABA(Agrokorea Co., Ltd., Korea)를 최종 농도가 50 mg/kg이 되도록 혼합하고, 생균제구는 Probiotics(MPL, Korea)를 0.1%가 되도록 배합사료에 첨가하여 급여하였다. Probiotics는 1×10^8 /g *B. licheniformis*, 1×10^7 /g *L. plantarum* 및 1×10^7 /g *C. butyricum*으로 구성되었다. 점등은 16시간 및 소등은 8시간으로 실험기간 동안 고정하였으며 실험사료는 수당 145 g으로 아바이커 사양관리매뉴얼(Aviagen, 2014)에 따라 고정하였고, 물은 무제한 급여하였다. 그리고 사육 기간 동안의 온도와 습도는 Table 1과 같았다.

2. 조사항목 및 분석 방법

1) 계란 품질 특성

계란 품질 특성은 실험 마지막 주에 각 처리당 수집한 종란 중 무게가 55g~62 g범위에서 임의로 10개씩 채취하여 분석을 진행하였다. 분석 항목은 난중, 난백고 높이, Haugh unit, 난황색, 난각 두께 및 난각 강도 등 검사를 실시하였다. 난중, 난백고 높이, Haugh unit 및 난황색은 계란 품질 분석기(EMT-5200, Toahoku, Rhythm Co., Ltd, Japan)를 이용하여 측정하였으며, Haugh unit는 난중(W)과 농후 난백고(H)를 측정하여 $[100 \log(H - (1.7 \times W^{0.37}) + 7.57)]$ 공식에 의하여 계산하여 나타내었다(Eisen et al., 1962). 난각 두께는 전자 미세두께 측정기(Series 547-360, Mitutoyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 난각강도측정기(Egg shell force gauge model II, Robotmation Co., Ltd, Japan)를 이용하여 난각 강도를 측정하였다.

2) 혈청 내 생화학 분석

육용 종계의 혈 중 생화학 조성을 분석하기 위하여 실험

Table 1. Temperature and humidity in the period of experiment

	Temperature-max (°C)	Temperature-min (°C)	Humidity (%)
1 week	29.9	24.9	81.7
2 week	31.4	23.3	74.3
3 week	33.2	25.5	73.3
4 week	28.6	22.1	68.8
5 week	27.4	19.8	69.2
6 week	27.0	19.1	60.6

마지막 주에 처리구 당 10수씩 랜덤 선발하여 익하 정맥에서 혈액을 serum separate tube에 채취하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리(MF-80, Hanil Science Inc, Korea) 후하여 상층액(혈청)을 분리하여 혈청 내 생화학 조성을 혈액분석기(AU480 Chemistry Analyzer, Beckman Coulter Inc., CA, USA)를 이용하여 분석하였다.

3) 혈청 내 Corticosterone 함량 측정

혈청 내 스트레스 호르몬인 corticosterone을 분석하기 위하여 분리한 혈청을 이용하여 실험을 진행하였다. Corticosterone 분석은 시판된 Chicken Corticosterone ELISA Kit(Wuhan Fine Biotech Co. Ltd., Wuhan, China)을 사용하였다.

4) 통계처리

육용 종계의 생산성, 계란 품질 및 혈액 성분 분석결과들은 SAS(2019) 프로그램의 General Liner Model(GLM) procedure을 이용하였으며, Duncan의 다중 검정을 이용하여 각 처리구 간의 평균값을 95% 신뢰수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 계란 품질 특성

GABA 및 생균제 급여에 따른 육용 종계의 계란 품질 결과는 Table 2에 나타내었다. 계란의 무게는 병아리 무게와 병아리 생산량에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 계란의 크기 및 무게가 증가함에 따라 육계 병아리의 부화 체중이 증가한다고 보고되었다(Iqbal et al., 2017). Williams(1994)

는 더 무거운 계란이 가벼운 계란 보다 더 많은 영양분을 함유하고 있어 배아가 성장하는데 긍정적 영향을 준다고 보고하였다. Tůmová and Gou(2012)는 20°C 및 28°C 온도에서 비교하였을 때 고온으로 인하여 계란 무게에 부정적인 영향을 미쳤다고 보고하였다. 난각 두께와 강도가 낮으면 깨질 위험이 커지기 때문에, 난각 두께와 강도는 종란을 수송하고 보관하는데 있어 중요한 지표이다(Puthongsiriporn et al., 2001). 또한 열 스트레스로 인하여 사료 섭취가 감소하여 껍질을 형성하기 위한 미네랄의 섭취 부족으로 난각 강도와 두께 감소가 발생한다고 보고하였다(Tůmová and Ledvinka, 2009), Wolc et al.(2010)는 Haugh unit이 비정상적으로 높을 경우 닭의 부화율이 감소된다고 보고하였지만, 더 많은 연구가 필요하다고 보고하였다. Mashaly et al.(2004)는 Haugh unit값은 고온 스트레스로 인하여 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서 난중(66.98~69.54 g), 난백고(5.03~5.18 mm), Haugh units(64.34~67.14), 난황색(7.28~7.39), 난각 두께(3.16~43.46 μ m) 및 계란 강도(377.00~379.00 g/cm^2)는 GABA 및 생균제 급여로 인한 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Zhu et al.(2015)의 연구에서 GABA 생성 생균제를 Hy-line에 급여하여 난백고, Haugh units 및 난황색에 유의적인 차이를 보이지 않았다. Zhang et al.(2012) 연구에서도 GABA를 산란계에게 25~100 mg/kg을 급여하였을 때 첨가 농도에 따라 Haugh units, 난황색 및 난각 두께에 차이를 나타내지 않았다. Park and Kim(2015)도 GABA를 0, 25, 50 및 100 ppm으로 산란계에 급여하였으나, 난백고 높이, 계란 강도, 계란 두께, Haugh units 및 난황색에 GABA가 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 또한 Aalaei et al.(2019)의 연구도 육용 종계에게 다양한 종류의 균이 포함된 생균제를 급

Table 2. Effect of γ -aminobutyric acid and the probiotic on egg quality in broiler breeder

Parameters	Treatments			SEM	P-value
	Control	GABA	Probiotics		
Egg weight (g)	67.66	66.98	69.54	1.154	0.918
Ablumen height (mm)	5.07	5.18	5.03	0.265	0.759
Haugh units	65.36	67.14	64.34	2.686	0.949
Yolk color	7.39	7.38	7.28	0.266	0.949
Shell thickness (μ m)	3.46	3.73	3.16	0.329	0.487
Shell strength (g/cm^2)	378.00	379.00	377.00	10.121	0.990

SEM, standard error of means; GABA, γ -aminobutyric acid.

GABA treatment was fed a diet containing 50 mg GABA/kg feed.

Probiotics treatment was fed a diet containing 0.1% Probiotics ($1 \times 10^8/g$ *B. licheniformis*, $1 \times 10^7/g$ *L. plantaru*, and $1 \times 10^7/g$ *C. butyricum*).

여하였으나, 계란 무게, Haugh units, 난황색, 껍질 두께 및 강도에 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고하였다. 이상과 같이 여러 연구에서도 본 연구의 결과와 유사하게 GABA 및 생균제가 계란 품질에 영향을 미치지 않는 것으로 보고하고 있다.

2. 혈청 내 생화학 조성

GABA 및 생균제 급여에 의한 육용 종계의 혈청 내 생화학 조성 결과는 Table 3과 같다. 가금류는 고온 다습한 환경에 의한 스트레스로 생체 대사 작용이 변경되어 혈청 내 글루코스, 콜레스테롤 및 알부민 등에 감소와 증가를 가져온다(Ibrahim et al., 2018). 또한 혈액 생화학 조성은 대사 질환을 평가하는데 중요한 요소로 사용된다(Rotava et al., 2008). 본 연구 결과 총 콜레스테롤 함량은 152.55~203.08 mg/dL, 글루코스는 221.38~226.19 mg/dL 및 총 단백질은 5.06~5.59 mg/dL 범위로 Nasr et al.(2021)과 Talebi(2006)의 44 및 49주령 Arbor Acres에 대한 측정치와 유사한 수준을 보고하였으나, 본 연구의 중성지질(1,350.75~1,569.34 mg/dL)은 높은 수준을 보였다. AST는 253.17~359.52 U/L, ALT는 1.95~3.37 U/L, 칼슘은 23.66~26.78 mg/dL 및 알부민은 1.61~2.03 g/dL 범위로 Nasr et al.(2021)의 연구와 다소 다른 수준 보였으나, 무기성 인은 6.06~7.37 mg/dL 범위로 유사한 수준을 나타냈다.

Table 3과 같이 혈액의 생화학적 분석 항목들 모두는 GABA와 생균제 급여로 인한 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Zhu et al.(2015)의 고온 스트레스 연구에서도 GABA 생성 생균제를 Hy-line에 급여하였을 때, 칼슘, 인, 포도당, 총 단백질, 알부민 및 ALT에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 고온스트레스의 산란계에 GABA를 25, 75, 100 mg/kg 씩 급여하였을 때, 농도 및 급여에 따른 혈청 내 글루코스, 총 단백질, 알부민 및 중성지질에 유의적인 차이를 보이지 않았다(Zhang et al., 2012). Sultan and Abdul-Rahman(2011)도 생균제를 육용 종계에 급여하였을 때 혈청 글루코스에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 Abdel-Hafeez et al.(2017)도 생균제를 육계에 급여하였을 때, 생균제 급여로 인하여 혈청 내 글루코스, 총콜레스테롤, 총 단백질 및 알부민에 영향이 없었다고 보고하였다. 따라서 이상의 연구결과 보고와 본 연구의 결과를 통하여 GABA 및 생균제 급여가 육용 종계의 혈청 내 생화학 조성의 변화에 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

3. 혈청 내 Corticosterone 함량

사료 내 50 mg/kg 의 GABA와 0.1%의 생균제 첨가에 따른 육용 종계 혈청 내 corticosterone 함량 결과는 Table 4에 나타내었다. 본 실험에서 corticosterone 함량 결과는 GABA 및 생균제 급여구가 각각 8.02 및 8.30으로 대조구의 14.18

Table 3. Effects of γ -aminobutyric acid and probiotics on parameters of serum in broiler breeder

Parameters	Treatments			SEM	P-value
	Control	GABA	Probiotics		
Total cholesterol (mg/dL)	186.66	152.55	203.08	18.403	0.183
Triglyceride (mg/dL)	1,569.34	1,356.25	1,350.75	147.448	0.509
Glucose (mg/dL)	225.82	226.19	221.38	7.495	0.882
Total protein (g/dL)	5.06	5.59	5.58	0.235	0.234
AST (U/L)	314.33	253.17	359.52	32.708	0.110
ALT (U/L)	1.95	2.04	3.37	0.526	0.144
Calcium (mg/dL)	26.03	23.66	26.78	1.572	0.372
Albumin (g/dL)	1.61 ^b	2.03 ^a	2.00 ^a	0.085	0.008
IP (mg/dL)	7.10	6.06	7.37	0.845	0.529

SEM, standard error of means; GABA, γ -aminobutyric acid.

^{a,b} Means in same rows with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

AST, Aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; IP, inorganic phosphorus.

GABA treatment was fed a diet containing 50 mg GABA/kg feed.

Probiotics treatment was fed a diet containing 0.1% probiotics (1×10^8 /g *B. licheniformis*, 1×10^7 /g *L. plantarum*, and 1×10^7 /g *C. butyricum*).

Table 4. Effects of γ -aminobutyric acid and probiotics on corticosterone serum in broiler breeder

Parameters	Treatments			SEM	P-values
	Control	GABA	Probiotics		
Corticosterone (ng/mL)	14.18 ^a	8.02 ^b	8.30 ^b	0.762	0.0001

^{a,b} Means in same rows with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

SEM, standard error of means; GABA, γ -aminobutyric acid.

GABA treatment was fed a diet containing 50 mg GABA/kg feed.

Probiotics treatment was fed a diet containing 0.1% probiotics (1×10^8 /g *B. licheniformis*, 1×10^7 /g *L. plantarum*, and 1×10^7 /g *C. butyricum*).

ng/mL 보다 유의적으로 낮았다($P < 0.05$).

고온, 저온, 고밀도 및 고 농도 암모니아 등으로 인한 스트레스를 평가하기 위하여 가금류는 corticosterone 함량을 지표로 사용하고 있다(Mcfarlane and Curtis, 1989). 또한 Feeman and Crapo(1982)는 열 스트레스로 인하여 혈중 corticosterone 농도가 증가하였다고 보고하였다. GABA의 급여는 면역 상태를 개선하여, 스트레스 부작용을 극복하는데 역할을 하며, corticosterone의 분비를 억제한다고 보고되고 있다(Herman et al., 2004). Jeong et al.(2020)은 GABA 첨가로 인하여 육계의 혈청 내 corticosterone 함량에 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서도 GABA 급여로 유사한 결과를 육용 종계를 통하여 도출하였을 뿐만 아니라 생균제 급여에 의하여 corticosterone 함량 감소를 확인하였다.

사료 첨가제로써 생균제는 고온 스트레스 조건에서 닭의 생산성과 면역력, 스트레스 감소를 가져온다(Zulkifli et al., 2000). 또한 생균제는 닭의 부신피질 자극호르몬의 방출을 감소시켜, 혈액 내 corticosterone 방출 호르몬을 감소시키고, 결과적으로 혈청 내 corticosterone 수준을 감소시켜 스트레스 반응을 완화시킨다(Ait-Belgnaoui et al., 2014). Sohail et al.(2012)의 연구에서는 육계의 만성적 고온 스트레스로 인하여 corticosterone 함량이 증가하였으며, 생균제 첨가로 인하여 corticosterone 함량이 감소하였다고 보고하였다. 또한 이러한 생균제 급여는 장건강과 미생물 군집에 영향을 미치기 때문에 닭에 건강하고 균형 잡힌 미생물 군집 형성으로 부신 활동이 정상화되었기 때문이라고 보고하고 있다. Xu et al.(2006)은 산란계가 고온(34°C) 스트레스를 받았을 때 혈청 내 corticosterone이 증가하였다고 보고하였으며, *B. licheniformis*(생균제)를 급여한 처리구에서 유의적으로 감소하였다고 보고하였다. 따라서 이상의 연구결과와 보고와 본 연구의 결과를 통하여 육용 종계에 GABA 및 생균제 급여 시 고온 스트레스를 완화할 수 있다고 사료된다.

적 요

본 연구는 우리나라 여름철에 육용 종계에게 γ -Aminobutyric(GABA)와 생균제를 급여하였을 때, 계란품질, 혈액 생화학 조성 및 corticosterone에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 본 연구는 49주령의 육용 종계 총 72수를 무작위로 선발하여 3 처리(대조구, GABA, 생균제)를 두었고, 시험구당 8반복으로 반복당 3수씩 완전임의배치하여 실험을 실시하였다. GABA와 생균제는 배합사료 내 각각 50 mg/kg과 0.1%의 농도로 급여하여 6주간 실험을 진행하였다. 6주 후 육용 종계의 난중, 난백고 높이, Haugh units, 난황색, 난각 두께 및 난각 강도에서 처리구간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 모든 혈액 내 생화학 조성에서 GABA와 생균제 급여로 인한 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈중 corticosterone 농도는 CON의 14.18 ng/mL에 비하여 GABA는 8.02 ng/mL 그리고 생균제는 8.30 ng/mL으로 크게 감소하였다($P < 0.05$). 이와 같은 corticosterone 수준의 감소는 스트레스 완화와 상호작용적 반응을 일으킨 것이라 사료된다. 결과적으로 본 연구에서 여름철 고온으로 인한 육용 종계 스트레스는 GABA 및 생균제 급여로 인하여 감소하였으며, 향후 이에 대한 보다 더 다양한 세부적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

(색인어 : 육용 종계, 여름철, γ -aminobutyric acid, 생균제, 스트레스)

ORCID

Yoo Don Ko <https://orcid.org/0000-0002-4457-4757>
 Ji Heon Kim <https://orcid.org/0000-0002-8282-2598>
 Ha Guyn Sung <https://orcid.org/0000-0002-5083-4164>

REFERENCES

- Aalaei M, Khatibjoo A, Zaghari M, Taherpou K, Akbari-Gharaei M, Soltani M 2019 Effect of single-and multi-strain probiotics on broiler breeder performance, immunity and intestinal toll-like receptors expression. *J Appl Anim Res* 47(1):236-242.
- Abdel-Hafeez HM, Saleh ES, Tawfeek SS, Youssef IM, Abdel-Daim AS 2017 Effects of probiotic, prebiotic, and synbiotic with and without feed restriction on performance, hematological indices and carcass characteristics of broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci* 30(5):672-682.
- Ait-Belgnaoui A, Colom A, Braniste V, Ramalho L, Marrot A, Cartier C, Houdeau E, Theodorou V, Tompkins T 2014. Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterol Motil* 26:510-520.
- Aviagen 2014. Arbor Acres Broiler Management Handbook.
- Bowling M, Forder R, Hughes RJ, Weaver S, Hynd PI 2018 Effect of restricted feed intake in broiler breeder hens on their stress levels and the growth and immunology of their offspring. *Transl Anim Sci* 2(3):263-271.
- Choi HY 2019 Effects of γ -aminobutyric acid on mortality in laying hens during summer time. *J Agri Life Environ Sci* 53(2):131-139.
- Deng W, Dong XF, Tong JM, Zhang Q 2012 The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poult Sci* 91(3):575-582.
- Eisen EJ, Bohren BB, Mckean HE 1962. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. *Poultry Science* 41(5):1461-1468.
- Freeman BA, Crapo JD 1982 Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Investig* 47(5):412-426.
- Fuller R 1989 A review: probiotics in man and animals. *J Appl Microbiol* 66(5):365-378.
- Herman JP, Mueller NK, Figueiredo H 2004 Role of GABA and glutamate circuitry in hypothalamo pituitary adrenocortical stress integration. *Ann NY Acad Sci* 1018(1): 35-45.
- Hu H, Bai X, Shah AA, Wen AY, Hua JL, Che CY, He SJ, Jiang JP, Cai ZH, Dai SF 2015 Dietary supplementation with glutamine and γ -aminobutyric acid improves growth performance and serum parameters in 22 to 35-day-old broilers exposed to hot environment. *J Anim Physiol Anim Nutr* 100(2):361-370.
- Ibrahim RR, Khalil F, Mostafa AS, Emeash HH 2018 Efficacy of probiotic in improving welfare and mitigating overcrowding stress in broilers. *Adv Vet Res* 8(4):73-78.
- Iqbal J, Mukhtar N, Rehman ZU, Khan SH, Ahmad T, Anjum MS, Pasha ZU, Umar S. 2017 Effects of egg weight on the egg quality, chick quality, and broiler performance at the later stages of production (week 60) in broiler breeders. *J Appl Poult Res* 26(2):183-191.
- Jahanian E, Mahdavi AH, Asgary S, Jahanian R 2016 Effect of dietary supplementation of mannanoligosaccharides on growth performance, ileal microbial counts, and jejunal morphology in broiler chicks exposed to aflatoxins. *Livest Sci* 190:123-130.
- Jeong SB, Kim YB, Lee JW, Kim DH, Moon BH, Chang HH, Choi YH, Lee KW 2020 Role of dietary gamma-aminobutyric acid in broiler chickens raised under high stocking density. *Anim Nutr* 6(3):293-304.
- Jha SK, Islam F, Mallick BN 2001 GABA exerts opposite influence on warm and cold sensitive neurons in medial preoptic area in rats. *J Neurobiol* 48(4):291-300.
- Kalavathy R, Abdullah N, Jalaludin S, Wong CMVL, Ho YW 2005 Effects of *Lactobacillus* cultures on performance and egg quality during the early laying period of hens. *J Anim Feed Sci* 14(3):537-547.
- Khan RU, Naz S, Nikousefat Z, Tufarelli V, Javdani M, Rana N, Laudadio V. 2011. Effect of vitamin E in heat-stressed poultry. *Poult Sci J* 67(3):469-478.
- Mashaly MM, Hendricks GL, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH 2004 Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult Sci* 83(6):889-894.
- Mashaly MM, Hendricks Rd GL, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH 2004 Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult Sci* 83(6):889-894.

- Mcfarlane JM, Curtis SE 1989 Multiple concurrent stressors in chicks.: 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil: lymphocyte ratio. *Poult Sci* 68(4):522-527.
- Nasr MAFM, Alkhedaide AQ, Ramadan AAI, Hafez AES, Mohamed A Hussein MA 2021. Potential impact of stocking density on growth, carcass traits, indicators of biochemical and oxidative stress and meat quality of different broiler breeds. *Poult Sci* 100:101442.
- Panda AK, Reddy MR, Rao SR, Praharaj NK 2003 Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white Leghorn Layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. *Trop Anim Health Prod* 35(1):85-94.
- Park JH, Kim IH 2015 Effects of dietary gamma-aminobutyric acid on egg production, egg quality, and blood profiles in layer hens. *Vet Med* 60(11):629-634.
- Puthongsiriporn U, Scheideler SE, Sell JL, Beck MM 2001 Effects of vitamin E and C supplementation on performance, *in vitro* lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poult Sci* 80:1190-1200.
- Rotava R, Zanella I, Karkow AK, Dullius AP, da Silva, LP, Denardin CC 2008 Bioquímica sanguínea de frangos de corte alimentados com subprodutos da uva. *Agrarian* 1(1):91-104.
- Sohail MU, Hume ME, Byrd JA, Nisbet DJ, Ijaz A, Sohail A, Shabbor A, Rehman H 2012 Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poult Sci* 91(9):2235-2240.
- St-Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G 2003 Economic losses from heat stress by us livestock industries. *Int J Dairy Sci* 86:E52-E77.
- Sultan KH, Abdul-Rahman SY 2011 Effect of probiotic on some physiological parameters in broiler breeders. *Int J Poult Sci* 10(8):626-628.
- Talebi A 2006. Biochemical parameters in broiler chickens vaccinated against ND, IB and IBD. *International J of Poult Sci* 5(12):1151-1155.
- Tůmová E, Gous RM 2012 Interaction of hen production type, age, and temperature on laying pattern and egg quality. *Poult Sci* 91(5):1269-1275.
- Tůmová E, Ledvinka AZ 2009 The effect of time of oviposition and age on egg weight, egg components weight and eggshell quality. *Arch für Geflügelkunde* 73(2):110-115.
- Williams TD 1994 Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. *Biol Rev Camb Philos Soc* 69(1):35-59.
- Wolc A, White IMS, Hill WG, Olori VE 2010 Inheritance of hatchability in broiler chickens and its relationship to egg quality traits. *Poult Sci* 89(11):2334-2340.
- Xie J, Tang L, Lu L, Zhang L, Lin X, Liu HC, Odle J, Luo X 2015 Effects of acute and chronic heat stress on plasma metabolites, hormones and oxidant status in restrictedly fed broiler breeders. *Poult Sci* 94(7):1635-1644.
- Xu CL, Ji C, Ma Q, Hao K, Jin ZY, Li K 2006 Effects of a dried *Bacillus subtilis* culture on egg quality. *Poult Sci* 85(2):364-368.
- Zhang M, Zou XT, Li H, Dong XY, Zhao W 2012 Effect of dietary gamma-aminobutyric acid on laying performance, egg quality, immune activity and endocrine hormone in heat-stressed Roman hens. *Anim Sci J* 83(2):141-147.
- Zhu YZ, Cheng JL, Ren M, Yin L, Piao XS 2015 Effect of γ -aminobutyric acid-producing *Lactobacillus* strain on laying performance, egg quality and serum enzyme activity in Hy-Line Brown hens under heat stress. *Asian-Australas J Anim Sci* 28(7):1006.
- Zulkifli I, Abdullah N, Azrin NM, Ho YW 2000 Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. *Br Poult Sci* 41(5):593-597.