



부화 전후 영양, 부화 후 유지시간, 그리고 *In Ovo* Feeding

문 양 수[†]

경남과학기술대학교 동물생명과학과 교수

Perinatal Nutrition, Post-Hatch Holding Time and *In Ovo* Feeding

Yang Soo Moon[†]

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

ABSTRACT The most important times during the development of young chicks are the days immediately prior to hatching and the days immediately after hatching, known as the perinatal period. A sufficient supply of nutrients during the perinatal period is a crucial during the late stage of embryonic development and the starvation period of the young chicks. The delayed post-hatch holding time can restrict the development of the gastrointestinal tract, reduce final body weight, impair muscle development, and change immunological capacities. These symptoms are deleterious to the development of young chicks. Therefore, the post-hatch holding time and its influence on the fitness of young chicks are major concerns to the poultry industry. The *in ovo* feeding is a practical technology for perinatal nutrition to optimize poultry production and for attenuating the stress experienced by fasting young chicks. This study will discuss *in ovo* feeding and its effect on the development of the chick embryo, the establishment of a healthy microbiota, and the improving immune response.

(Key words: *In ovo* feeding, post-hatch holding time, perinatal nutrition, chicks)

서 론

지난 수십 년 동안 가금 산업에서 육종과 선발에 의해 닭의 형질은 혁신적으로 개선되었다. 산란계의 경우, 52주 동안 약 320개 이상 계란을 생산하며, 육계의 경우 부화부터 도계까지 체중이 약 50~60배 증가하였다(Druyan, 2010). 육계의 체중은 1957년부터 2005년까지 400% 이상 증가하였으며, 이는 42일령 기준 매년 약 3.3%씩 육계의 체중 증가가 지속적으로 이루어진 결과이다(Zuidhof et al., 2014). 이러한 결과는 대단한 형질의 개량 효과임에는 틀림이 없지만, 높은 생산성과 빠른 성장은 닭의 복수증, 골격이상, 면역력 감소, 전염성 질환에 대한 높은 민감성 등의 부정적인 측면도 동반되었다(Emmerson, 1997; Havenstein et al., 2003). 닭의 성장과정에서 어린 병아리의 발달에 가장 결정적인 시간으로 인식되는 시점은 부화 전후 기간(perinatal period)으로 부화 전 수일부터 부화 후 수일간이 여기에 해당되며, 소화기관의 발달이 가장 빠르게 일어나는 기간이다(Iji et al., 2001).

이 시기는 종란 내(*in ovo*) 난자의 영양소 이용부터 외부에서 공급되는 사료의 이용이라는 점에서 대사적 생리적 전환점이기도 하다(Ferret, 2001). 따라서 부화 전후의 충분한 영양소 공급은 배아의 최종 발달과 병아리의 초기성장 결정적 기여를 한다고 볼 수 있다. 부화기에서 병아리가 알을 깨고 나오는 시간은 다양하다. 일반적으로 첫 부화부터 36~48시간의 차이를 두고 알에서 깨어 나오며, 약 95%의 부화가 되었을 때 부화를 종료한다(Kadam et al., 2013). 갓 부화된 병아리는 부화장에서 처리시간, 사육농장까지 운송시간 등을 추가로 포함하면 총 48~72시간까지 사료와 물을 섭취하지 못하게 된다. 이 절식기간동안 병아리는 난황에 있는 지방과 단백질이 개체의 유지와 성장에 필요한 유일한 에너지원이 된다(Sklan et al., 2000). 부화초기 절식 기간은 병아리의 성장에는 결정적인 순간이며, 소화기관의 발달에도 좋지 않은 영향을 주게 될 뿐만 아니라, 어린 병아리에게 심각한 스트레스로 작용될 수 있다(Ferret, 2001).

따라서 본 원고는 육종과 선발에 의해 성장 및 생산능력

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

이 극대화된 닭의 종란에서 부화 전후에 적절한 배아 발달과 갓 부화된 병아리의 절식을 완화하기 위한 기술로 이용되는 *in ovo feeding*, 부화 전후의 영양소의 공급(*perinatal feeding*)과 소화장기의 발달, 미생물 균총의 변화 및 면역증진, 그리고 부화 후 필연적으로 수반되는 섭취지연에 의해 받게 되는 병아리의 스트레스를 저감하기 위한 방안 등에 대한 최근까지 연구들을 소개하고자 한다.

본 론

1. Hatching Window와 부화 후 유지 시간(Post-Hatch Holding Time)

‘Hatching window’는 부화기로 옮겨진 종란으로부터 첫 번째 병아리가 부화되는 시점부터 최종 병아리가 부화되는 시점까지의 총 부화시간을 의미한다. 따라서 너무 일찍 부화되거나 너무 늦게 부화가 되면 *hatching window*의 폭은 커지게 된다. 병아리의 부화 후 발생기에서 머무는 시간이 길어지면 체온상승과 탈수 및 체중감량이 일어나고, 총 부화시간이 너무 짧으면 부화를 감소로 이어진다. 따라서 적절한 부화시간의 결정은 병아리의 품질과 건강성을 높일 뿐만 아니라, 스트레스 완화를 위한 중요한 요인이 된다. 상업적으로 이용하는 부화장의 부화는 일반적으로 36~72시간까지 지속되어 *hatching window*의 폭이 매우 넓다(Decuyper et al., 2001). 갓 부화된 병아리는 암수 구별, 백신처리 및 수송 등의 과정을 거치면서 48시간 또는 그 이상 물과 사료의 접근이 없게 되는 부화 후 유지시간(*Post-hatch holding time: Gap between hatching time and neonatal chick’s access to feed*)을 접하게 된다(Noy and Sklan, 1999). 부화된 병아리가 24시간 이상 절식시간이 길어지게 되면 육계에 부정적인 영향을 주게 된다(Batal and Parsons, 2002). 길어진 절식시간은 질병 감염성이 높아지고(Dibner et al., 2008), 체중감소(Bigot et al., 2003), 주요한 조직과 기관 즉, 소장(Dibner and Richards, 2004), 면역체계(Dibner et al., 2008), 가슴근육(Bigot et al., 2003) 등의 발달지연을 초래할 뿐만 아니라, 심한 경우 폐사(Gonzales et al., 2003)에 이르게 된다. 소화 장기는 부화 수일 전부터 발달하기 시작하지만(Uni et al., 2003), 부화 후 빠른 시간 내에 사료를 섭취해야 정상적 소화기간의 발달을 유도할 수 있다(Jin et al., 1998). 부화 후 사료와 물을 즉시 공급해 주지 않으면, 소화 장기의 발달이 지연되고, 영양소의 이용도 정상적으로 이루어질 수 없다. 특히 간과 근육은 대사적 기작의 변화로 이 시기에 가장 크게 영향을 받게 된다(de Oliveira et al., 2008). 육계에서 근육의 유

사분열 활성은 배아 15일령부터 시작하고, 부화 직후인 2~3일령에 최고지점에 달하며, 이후 8일령까지 감소한 다음 최종분화(*terminal differentiation*)와 근섬유와의 병합이 진행된다(Stockdale, 1992; Halevy et al., 2006). 부화 전후의 기간에 일어나는 생리학적 변화 과정에 가장 중요한 것 중 하나는 포도당 항상성 유지이다. 글리코겐의 저장소 없이 배아는 부화과정에 들어간다(Lu et al., 2007). 배아의 부족한 글리코겐은 배아로 하여금 보다 많은 근육 단백질이 포도당 신합성을 위해 동원하게 하며, 부화된 병아리가 사료를 충분히 섭취하여 글리코겐 저장소가 다시 채워질 때까지 부화 후 초기 성장과 발달을 감소시킨다(Vieira and Moran, 1999). 닭의 가슴근육은 부화 후 에너지 저장소가 고갈될 때 포도당 신합성을 위한 아미노산 공급원으로서 가장 많이 동원하는 단백질원이다(Lu et al., 2007). 절식기간 동안이나 에너지가 낮은 수준일 경우, 가슴근육은 아미노산과 에너지 공급원으로서 기여하고 이는 결국 근육 위축으로 이어질 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 *in ovo feeding*을 이용, 부화 수일 전에 육계 배아의 양수에 탄수화물과 아미노산 대사물을 주입하여 부화 전후에 부족해진 글리코겐을 보충해 줌으로써 체중, 가슴근육의 발달을 유도할 수 있다. 위의 내용들을 종합해 보면 부화 전후 충분한 영양소 공급은 건강한 병아리 생산의 기본이며, 스트레스 최소화를 위한 필요조건이 되고 있음을 알 수 있다.

2. 부화 전후의 소화장기의 발달과 *In Ovo Feeding*

병아리의 발생기간 동안 소화 장기의 발달은 배아발생 전반을 통해 일어나지만 소장의 기능적 능력은 배아발생 15일 경부터 시작되며, 모양적, 세포적, 분자생물학적 집중적인 변화가 그 증거가 된다(Dibner and Reichards, 2004; Uni, 2006). 부화 최종일에는 배아의 무게 대비 소장의 상대 무게 비교(1.4%/발생17일 vs 3.4%/부화직후)에서 소장의 무게가 매우 크게 증가한다고 한다(Uni et al., 2003b). 소장에서 이 당류와 길이가 짧은 펩타이드 등을 소화시킬 수 있는 brush border에서의 유전자들의 발현과 효소의 활성, 그리고 주요 운반체들은 배아 발생 16일부터 증가하기 시작하고, 발생 20일에는 15~40배까지 증가한다(Uni et al., 2003b). 병아리의 소화장기의 발달은 부화 후 첫 수일간이 몸의 다른 부위보다 더 빠르게 성장하기 때문에 닭 성장에서 부화초기는 매우 중요한 역할을 하게 된다(Iji et al., 2001). 부화 직후에 소장의 발달은 급격하게 촉진되는데, 약 48시간동안 외부 사료섭취가 지연되면 소장의 점막층(*mucosal layer*)의 외형적, 기능적 발달이 적게 일어나게 된다(Uni et al., 2003a). 처음

24~48시간 동안 사료섭취가 지연되면 용모의 길이(Yamauchi et al., 1996), 용모당 crypt의 수와 크기 등이 감소한다(Geyra et al., 2001a). 또한, 48시간 섭취지연은 뮤신의 역동성을 변화시켜 소장의 흡수와 방어기능에 영향을 미치게 된다(Uni et al., 2003a).

병아리의 섭취지연은 후장(hindgut)에 있는 위장관점막연관 림프조직 활성(gut-associated lymphoid tissue activity)과 충배설강 점액낭까지 연결된 장기의 발달이 부화 후 첫 2주일간 뚜렷한 지연을 보인다(Shira et al., 2005). 부화 후 유지 시간이 증가할수록 잠재적 탈수와 에너지 고갈로 인하여 병아리에게는 스트레스로 이어질 수 있다(Boersma et al., 2003). 부화 후 즉시(24시간 이내) 사료섭취를 한 병아리는 섭취지연 병아리에 비하여 체중 증가가 있었으며, 조기 섭취에 의한 체중 증가는 조류의 영양적 성숙, 난황이용 촉진, 소장발달 향상, 장기적 대사적 이익 등에 기인한 것이다(Noy and Uni, 2010). 부화 후 즉시 사료의 섭취는 사료에서 공급된 영양소가 난황 영양소의 보충적 역할을 하기 때문에 부화장에서 사료공급은 매우 중요하게 된다(Murakami et al., 1992; Willemsen et al., 2010). 부화장 내에서 pre-starter feed로서 갓 부화된 병아리에게 사료를 공급해 줄 수 있지만, 부화기 내의 환경을 고려하면 이를 대체할 수 있는 방법 중의 하나로 *in ovo* feeding 기술이 적용될 수 있다. 1980년대 초 마렉병(Marek's disease; MD)을 예방하기 위한 방법으로 *in ovo* vaccination 방법이 처음 이용되었다(Sharma and Burmester, 1982). *In ovo* 방법 이전에는 부화 후 MD 백신을 접종하였는데, 여전히 MD 바이러스에 감염되고 폐사율 또한 높게 나타났다. 이러한 원인 중 하나는 부화 후 MD 백신 접종은 어린 병아리가 백신에 대한 면역성을 형성할 수 있는 충분한 시간을 확보하지 못한 상태에서 바이러스에 감염되어 폐사하는 것이다. 이를 극복하기 위하여 부화 후반기 즉 배아 16~20일령에 MD 백신을 *in ovo*로 주입한 경우, 부화율에는 영향을 주지 않으면서 높은 면역력을 보였다(Sharma and Burmester, 1982). *In ovo* 백신에 의한 성공적인 결과로 *in ovo* 방법을 이용한 아미노산, 탄수화물, 비타민, 지방산 및 기타 생물체제 등을 발생단계에 공급하는 시도를 하게 되었다. 종란 내 영양소들은 부화하기 직전 배아가 구강으로 양수의 내용물을 흡수하게 되면, 소화 장기의 내부 세포조직에 노출되게 된다(Kadam et al., 2013). 영양소들과 소화장기 세포조직들과의 접촉은 소화능력과 영양소 흡수 능력을 높이는 장내 세포들의 발달을 촉진시킬 수 있기 때문에 갓 부화된 병아리의 영양적 상태를 향상시켜 준다. 갓 부화된 병아리의 소화기관은 단백질과 탄수화물이 많이 함

유된 사료의 소화나 이용에 제한적이다(Uni and Ferket, 2004). 또한, 난황과 난백은 배아나 병아리의 대사 요구량에 충분한 탄수화물을 공급해 주지 못한다(Klasing, 1998). 이러한 환경에 처한 18일령 배아에 탄수화물이 포함된 saline 1 mL를 *in ovo*로 주입하였을 때, 48시간 후에 공장의 용모의 높이가 45% 이상 증가하였다(Uni and Ferket, 2004). 또한, 포도당을 *in ovo* 주입한 경우, 부화시 병아리의 간, 전위, 사냥, 그리고 소장의 무게가 주입하지 않은 대조구에 비하여 높았다(Bhanja et al., 2008). 양막에 *in ovo* 영양소를 주입하였을 때, 부화된 병아리의 소장의 발달이 촉진되었는데, 소장의 용모 길이의 증가, 탄수화물 소화력 향상 등이 관찰되었다(Tako et al., 2004). 탄수화물을 *in ovo* 주입으로 배아에 공급하였을 때, 배아 19일령에서 부화 후 3일까지 용모의 넓은 면적, 공장의 용모에 있는 배상세포(goblet cell)의 높은 밀도, 뮤신 유전자의 높은 발현 등이 관찰되었다(Smirnov et al., 2006). 위의 연구들을 종합해 보면 발생 중인 닭 배아 소장내의 탄수화물의 존재는 배상세포의 증식과 산성인 뮤신의 생성을 촉진하는 요인으로 보인다(Kadam et al., 2013). 아미노산 20종류 모두가 혼합된 0.5% 농도의 아미노산을 배아 14일령에 *in ovo* 주입한 결과, 3주령에서 대조구에 비하여 보다 큰 소화기관이 관찰되었다(Bhanja et al., 2004). 그러나 같은 연구기관에서 특정 아미노산을 같은 방법으로 주입하고 21일령에 관찰된 소화장기의 발달은 대조구와 차이가 없었다(Bhanja and Mandal, 2005). 최근 연구에 의하면 알지닌, 아이소루신, 세린 등의 아미노산을 *in ovo* 주입하였을 때 부화 후 증가한 것처럼 뮤신 유전자 발현은 배아발달 후반기에 아연, 요오드 또는 철을 *in ovo*로 주입하였을 때 증가하는 것으로 확인되었다(Bakayaraj et al., 2011). 이상을 종합해 보면 탄수화물 또는 아미노산의 *in ovo* feeding은 부화 전후의 소화장기 발달에 긍정적으로 작용한다고 할 수 있다.

3. 부화전후 미생물 군총의 변화와 *In Ovo* Feeding

종란의 내부는 무균상태(germ-free)이며, 갓 부화된 병아리도 무균상태라는 지금까지의 오랜 관념은 이제 벗어나야 할 것 같다. 종란은 산란순간에 이미 수직적(모계)이던 수평적(부화장, 산란장 등)이던 난각 표면뿐만 아니라 그 내용물에도 미생물에 감염되어 있을 수 있다(Barrow, 1994; Berrang et al., 1997; Kizerwetter-Swida and Binek, 2008; Ilina et al., 2016). 부화 중 가장 이른 시기에 확인된 것은 발생 16일령에 배아 소장에서 발견되었다(Pedrosa, 2009). 배아의 발달 시기에 난황을 흡수하게 되면서 소장 내에 미생물이 균락을

형성하는 것으로 추정된다(De Reu et al., 2006). 발생 17~20일 사이에 확인된 미생물의 종류는 *Enterococcus*균이 가장 많으며, *Micrococcus*균과 *Bacillus*균 등이 맹장에서 가장 많이 관찰되었고, 그 다음이 난황이었다(Binek et al., 2000; Kizerwetter-Swida and Binek, 2008). 어미 닭의 감염된 번식 기관에 의해 살모넬라균도 새롭게 형성된 계란의 난황, 알부민, 또는 난각막까지 모계에서 병아리로 수직 전달이 될 수 있다(Keller et al., 1995; Gantois et al., 2009). 따라서 가금의 초기발달 성장 시기 동안 언제 어떻게 장내 미생물 군총이 형성되는지 이해하는 것이 중요하다(Roto et al., 2016). 보다 최근 연구에 의하면, 16S rRNA 유전자에 대한 차세대 염기분석 결과, 1일령 병아리의 소화 장기에서 다양한 미생물의 군집 형성을 확인하였으며, 이는 병원균뿐만 아니라, 유익균 또는 상업용균도 모계로부터 병아리에게 전달될 수 있음을 의미한다(Tieshan et al., 2014). 최근에는 건강하고 성숙된 소화장기 미생물 군총이 가금의 건강과 성장능력에 결정적 역할을 하는 것으로 인식되기 시작하였다(Pan and Yu, 2014). 미생물 군총을 통한 닭의 성장능력과 건강을 최적화하기 위한 방안은 이미 군총이 형성된 후에 변화를 유도하는 것보다 건강하고 균형 있는 장내 미생물 군총을 형성 초기에 확립하는 것이 중요하다. *In ovo* 방법은 병원성균에 노출되기 전에 건강한 장내 미생물 군총을 조기에 형성할 수 있도록 촉진하기 위한 좋은 생물학적 제제의 전달 수단이며(Roto et al., 2016), 이를 위하여 어린 병아리에 건강한 성체 닭의 미생물 군총을 조기에 접종하였을 때, 장내 미생물군총의 발달을 촉진하고, 이에 따라 장의 면역 기능을 향상시킬 뿐만 아니라 성장능력도 개선하였다(Gleeson et al., 1989; Crhanova et al., 2011). 생균제제를 probiotic 개념으로 *in ovo* 방법을 이용하는 것은 장내 유익균의 조기 정착과 병원균에 대한 효과적 물질의 생성 유도, 유해균의 침입 억제 등에 의한 건강한 미생물군총 형성 등을 제공하기 위한 것이다. 단일 probiotic bacteria(예, *Lactobacillus*)를 이용하는 것보다 건강한 닭에서 유래된 미생물군총이 더 효과적으로 병원성 미생물의 감염에 대한 저항성을 높인다(Fuller, 1989). 건강한 닭의 미생물군총을 확보하기 위하여 'competitive-exclusion principle'를 이용하게 되는데, 이는 서로 다른 종(species)이 제한된 자원을 두고 경쟁하게 되면 같은 공간에서 같이 공존할 수 없고 주어진 환경에서 유리한 한쪽은 공간을 우점하게 되고, 장기적으로는 약한 경쟁자가 소멸되는데는 원리이다(Hardin, 1960). 성체닭의 장내미생물군총에서 유래된 probiotic competitive-exclusion product(경쟁적 배제 미생물)를 배아 18일령에 기실 또는 양막에 *in ovo* 주입을

한 결과, 미생물의 다양성 증진뿐만 아니라, *Sallmonella*와 *E. coli*를 포함한 병원성 미생물이 감소하였다(Kidd, 2004; Pedroso et al., 2016). 이와 반대로 *Lactobacillus*계 3가지 균들을 배아 18일령에 기실로 *in ovo* 주입한 결과, 병원균에 대한 방어 효과가 없었다(Yamawaki et al., 2013). 따라서 *in ovo* 주입에 의한 생균제 공급은 효과가 서로 상반된 결과를 보이기도 하지만, 경쟁적 배제 방법을 이용한 미생물에는 알 수 없는 수준의 균들도 같이 포함되어 있을 수 있기 때문에 그 이용성에 제약이 있다. 현 시점에서는 생균제의 *in ovo* 주입은 사용에 대한 유용성보다 잠재적으로 해가 될 수 있는 요인들이 내포되어 있기 때문에 추가적인 연구에 의한 정보들이 제공되기까지는 현장 적용은 이르다고 볼 수 있다. 생균제와는 달리 prebiotics 또는 synbiotics에 대한 *in ovo* 주입에 대한 관심이 최근 높아지고 있다. Prebiotics은 장내 미생물의 성장이나 활성을 선택적으로 촉진시켜주고 숙주의 건강을 제공해 주기 때문에, synbiotics은 prebiotics와 probiotics을 병합한 형태로 주목을 받고 있다. Prebiotic의 inulin과 synbiotic(inulin+*Lactobacillus lactics*)를 배아 12일령의 기실에 주입한 결과 사료효율에 영향 없이 최종 생체중이 증가하였으며, 췌장효소(amylyase, lipase, hydrolase)의 활성의 증가를 보였다(Pruszyńska-Oszmalek et al., 2015). 이러한 효소들의 활성 증가는 갓 부화된 병아리들에게 종란의 내생적 영양소(난황)의 이용으로부터 외부적 영양소(사료) 이용으로의 전환시점에 큰 도움이 될 것으로 사료된다. Prebiotics와 synbiotics를 *in ovo* 주입한 경우 면역 증진효과를 나타내기도 한다고 한다. Synbiotics를 배아 12일령에 기실에 *in ovo* 주입한 결과, 면역장기(bursa of Fabricius, spleen)의 발달 촉진과 흉선에서 림프구의 분열이 증가(Slawińska et al., 2014), immunoglobulin의 합성 증가(Madej et al., 2015) 등의 면역반응에 긍정적인 결과들을 보였다. Prebiotics와 synbiotics등에 대한 *in ovo* 주입에 대한 영양적, 면역적 측면에서 좋은 결과들을 볼 수 있지만, 연구 결과의 수직 제한과 *in ovo* 주입의 양과 주입 부위 및 주입시기 등에 대한 많은 결과들이 축적된 다음에 현장 적용 등에 대한 결론을 내릴 수 있을 것으로 보인다.

4. *In Ovo Feeding*과 영양소 보충

*In ovo*에 의한 물질의 주입은 다양하며, 주로 배아의 일령에 따라 큰 차이를 보인다(Ebrahimi et al., 2012). 발생초기, 중기, 후기로 구분하면, 발생초기에는 12 mm 깊이로 최대한 배자원반에 가까운 곳에 주입한다. 발생 후기에는 영양소를 난황막으로 도입하는데, 이때는 난황의 영양소를 소화할 수

있는 능력이 있기 때문이다. 배아 17일령 이후에는 난황이 흡수되므로 다른 영역의 주입 장소가 필요한데, 이때는 기실과 양막이 이용될 수 있다. 양막으로의 영양 물질의 공급 목적은 배아에게 보충 영양소를 공급하기 위한 것이며, 병아리가 부화하기 전 이 양수를 섭취하게 되면 영양소가 소장으로 전이된다(Uni and Ferket, 2004). 만약 조기사료 급이가 갖 부화된 병아리의 초기 발달에 도움이 된다면, 배아의 발달기간 동안 *in ovo* 방법에 의한 영양소의 공급은 부화율, 소화기관의 발달, 체중증가 및 초생추의 영양적 상태 등에 긍정적인 효과를 볼 수 있다(Uni and Ferket, 2004).

현재 전 세계적으로 사육되고 있는 대부분 육계는 조기성장 목적을 개량되었으며, 도계 일령은 대부분 35~42일령이 된다. 이러한 사육기간을 고려하면, 배아시기의 21일은 도계 직전까지의 약 33~38%의 삶을 차지한다(Retes et al., 2018). 근육과 같은 조직의 이른 시기 발달을 고려하면, 배아의 발달과 부화 후 육계의 능력은 강한 상관관계가 있다(Grodzik et al., 2013). 따라서 조류의 조기발달에 있어서 생리적 대사적 균형은 부화 후 증체와 육질의 성격에 큰 영향을 미치게 된다. 계란에 있는 영양소는 암탉의 영양적 상태에 좌우된다(Shafey et al., 2012). 그러나 육종에 의해 향상된 빠른 성장은 계란에 있는 영양소의 양으로는 배아 조직의 완전한 발달에는 충분하지 못할 수 있다(Grodzik et al., 2013). 그리고 부화 수일간의 절식 기간은 난황에 있는 영양소 저장소만으로는 더욱더 제한된 상태를 초래한다. 결국 닭의 초기 능력은 손상되고 더 악화될 수 있다(Kornasio et al., 2011). 이러한 문제점을 극복하기 위하여 배아에게 이용 가능한 영양소를 증가시키기 위하여 *in ovo* feeding이 개발되었으며, 영양소들은 계란의 서로 다른 내부 부위에 주입되었다. 시도된 여러 영양소들 중에서 탄수화물 주입이 가장 많이 시도되었는데, 이는 계란 내에 전체 영양소 중에서 1% 이하를 차지하고 있고, 겨우 0.3%만이 유리 포도당으로 있기 때문이다(Retes et al., 2018). 탄수화물의 이용성이 높아지면 포도당 신합성에서 아미노산의 이용을 낮추어 근육에서 단백질 합성에 유리하게 작용할 수 있기 때문이다(Kornasio et al., 2011). 대부분 연구는 단당류인 포도당을 주입하였으며, 일부는 복합당류를 이용하기도 하였다. 당의 1회 주입량은 5~15 mg/egg부터 최고 2,500 mg/egg까지 시도되었으며, 100 mg/egg이하 주입시 대부분 부화시 체중 차이가 없었으나, 이보다 높은 주입의 경우 연구의 약 50%에서 부화시 체중 증가가 관찰되었다(Retes et al., 2018). 배양 15일 이전의 약 80%의 연구들을 보면 부화시 체중 증가효과를 보였으며, 탄수화물의 주입은 배양 15일 이전에 효과

가 높고, 배양 15일 이후 탄수화물 주입을 시도한 경우, 대부분은 부화시 체중에 영향이 없었다(Retes et al., 2018). 당의 주입 부위로 난백은 좋지 않은데, 이는 배아의 호흡을 방해하는 민감한 반응을 유발할 수 있기 때문이다(Salmanzadeh, 2012). 양막강에 바로 주입한 경우 부화율이 84% 감소하였으며, 기실을 통한 주입은 부화율 감소율이 7.5%로 비교적 양호한 결과를 보였다(Leitao et al., 2010). 이와 같이 영양소 주입과 부화율 감소는 대부분 주입장소에 따라 차이를 보였는데, 난황 또는 배자외강에서는 부화율 감소가 없었다(Ohta and Kidd, 2001). 주입하는 탄수화물의 농도가 높은 경우, 삼투압의 증가로 배아의 치사율을 높일 수 있으며, 당의 주입량 또한 0.7 mL를 넘지 않도록 하여 부화율 감소를 막을 수 있다(Zhai et al., 2011). 탄수화물의 주입 효과는 소장내강에 탄수화물을 공급함으로써 용모발달을 촉진하고, 장상피세포의 효소준비활성화, 이로 인한 부화 후 소장의 영양소 흡수 능력 증대 유도 등을 들 수 있다(Tako et al., 2004). 그러나 부화시 체중과 장발달이 항상 연계되는 것은 아니며, 이후 육계의 산육능력에도 영향을 미치지 못한다는 주장도 있지만(Retes et al., 2018), 탄수화물의 *in ovo* 공급이 육계의 42일령 생산능력을 향상시켰다는 보고도 있다(Salmanzadeh, 2012). 탄수화물을 이용한 *in ovo* feeding 연구들을 종합해 보면 부화시 체중 증가를 보이지만 육계의 부화 후 능력에는 크게 영향을 보이지 않았으며, 탄수화물 주입에 따른 부화율 감소는 기술적 요인(최적 농도, 주입 장소, 부피 등)이 크게 작용하는 것으로 보인다.

암탉을 사육할 때 균형 있는 아미노산의 공급은 필수적인데, 아미노산 조성과 단백질이 좋지 않은 사료를 섭취한 암탉은 보다 작은 알을 낳을 가능성이 있으며, 이렇게 생산된 작은 계란을 부화시킬 경우 배양기간 동안 배아가 필요로 하는 아미노산 요구량을 충족하지 못할 수 있다(Keshavarz and Jackson, 1992). 배아가 발달할 때는 모든 아미노산이 필수적인데, 어느 하나의 아미노산이 부족하여도 단백질합성이 불완전하게 되고, 배아의 항상성 유지를 방해하게 되어 결국은 부화 후에도 성장과 기관의 발달을 저해하게 된다. 또한 큰 종란은 작은 종란에 비하여 보다 큰 배아를 형성한다(Al-Murrani, 1982). 계란 무게 1 g의 차이는 성장 후 육계의 56일령 체중에서 10 g의 차이를 보인다(Al-Murrani, 1982). 육계 종란 내에 혼합 아미노산을 주입하면 그렇지 않은 계란에 비하여 부화시 체중 및 56일령 체중이 보다 더 크다고 하였다(Al-Murrani, 1982). 최적의 *in ovo* 아미노산 주입을 위한 곳은 7일령 배아의 난황 또는 배자외강이며, 양막강에 주입한 경우 부화가 일어나지 않았다(Ohta and Kidd, 2001).

영양소 공급 목적의 *in ovo* 아미노산 주입은 현 시점에서 일관된 방향을 잡기는 어려우며, 추가적인 연구들이 요구된다고 하겠다.

5. *In Ovo Feeding*과 면역 증진

현대 상업용 닭의 종계는 성장 또는 생산능력에 부정적 영향을 고려하여 높은 면역능력을 지닌 품종으로 개량하지 않았다(Kadam et al., 2013). 그러나 최근 연구는 초기성장과 면역능력을 서로 연결하려는 연구가 *in ovo feeding*을 이용하여 연구되고 있다. 첫 번째 연구는 비타민 E를 칠면조 배아 3일령에 양막으로 주입한 결과, 면양 적혈구세포에 대한 항체와 대식세포의 증가효과 및 부화 후 칠면조 새끼와 고기의 질이 향상되었다(Gore and Qureshi, 1997). 아미노산, 수용성 또는 지용성 비타민 미량광물질 등의 영양소를 요구량보다 많이 제공하면 가금의 면역 증진 효과를 보인다(Kidd, 2004). *In ovo feeding*에 의한 자연산 영양소의 공급은 장내세포의 발달을 촉진함으로써 장내 항원에 대하여 향상된 면역 반응을 유도하는 이상적 시작점이 될 수 있다. 모든 아미노산에 대한 이러한 이점들이 현시점에서 다 알려진 것은 아니지만(Bhanja et al., 2004), *in ovo* 아미노산 조합(라이신+메티오닌+시스테인, 트레오닌+글라이신+세린, 이소루신+루신+발린)의 형태로 공급되었을 때 세포성 면역(cell-mediated immunity)과 체액성 면역(humoral immunity)에 대한 높은 면역 반응을 보였다(Bhanja and Mandal, 2005). *In ovo feeding*을 20~30 mg의 트레오닌을 난황막내에 주입한 경우 병아리의 부화 후 성장과 체액성 면역 반응이 향상되었다(Kadam et al., 2008). 라이신과 트레오닌, 또는 메티오닌과 시스테인을 조합으로 하여 배아에 주입하였을 때, 체액성 면역과 연관된 IL-6, TNF- α 의 유전자 발현이 높게 발현되었으며, 트레오닌을 *in ovo* 주입한 결과, 세포성면역 연관 유전자 IL-2, IL-12의 발현이 증가하였다(Bhanja et al., 2010). 비타민 E(0.25~0.50 IU)를 *in ovo* 주입한 결과, 부화 후 성장과 체액성 면역 반응이 증가한 반면, linoleic acid의 경우 육계의 세포성 면역을 향상시켰다(Bhanja and Mandal, 2005). 면역계가 적정시기에 완성되려면 많은 양의 세포가 분열을 하게 되는데, 이를 위하여 에너지원인 포도당이 많이 필요한데, 흉선세포와 T cell이 여기에 해당된다. 육계에서 *in ovo*에 의한 포도당 주입은 체액성 면역 연관 유전자들 IL-6, IL-10 들의 발현을 증가시키고, 프락토스 또는 리보오스의 주입은 세포성 면역 연관 유전자 IL-2, INF- γ , IL-12 등의 발현을 증가시킨다(Bhanja et al., 2010). 따라서 *in ovo*에 의한 포도당 이용성의 증가는 T cell에서의 포도당 대사를

촉진하고, 부화초기 면역체계의 발달을 돕는다(Kadam et al., 2013). *In ovo*에 의한 아미노산, 미량광물질 또는 지방산과 비타민을 배양 18일에 양막강으로 주입하면 닭의 세포성 면역반응을 조절할 수 있다(Bakayaraj et al., 2011). 앞의 연구들을 종합해 보면, *in ovo feeding*에 의한 아미노산 공급은 초기 면역 향상에 도움이 되는 것으로 판단된다. 그러므로, 앞으로 면역관련 유전자들의 발현을 조절하는 *in ovo* 영양소들을 확인하는 추가적인 연구들이 필요하다. 또한 면역조절 영양소들에 대한 이해와 면역력 증진과 닭의 전체 건강을 향상시킬 있는 *in ovo* 사료를 제조할 수 있는 방법들을 강구해야 한다.

결론

배아의 발달기간 동안 *in ovo* 방법에 의한 영양소의 공급은 부화율, 소화기관의 발달, 부화시 체중증가 및 초생추의 영양적 상태 등에 긍정적인 효과를 보인다. *In ovo feeding* 효과는 가금의 생산능력 측면에서 부화시 체중의 증가를 볼 수 있지만, 출하시까지 그 지속성은 미미하다. 그러나 육종과 선발에 의해 성장 및 생산능력이 극대화된 것 부화된 병아리는 절식에 의한 극심한 스트레스에 직면하게 되는데, *in ovo feeding*은 절식에 의한 스트레스 완화와 장내 미생물 균총의 조절, 면역 증강 등의 효과를 통하여 건강한 병아리의 생산에 크게 기여한다고 본다.

적요

닭의 성장과정에서 어린 병아리의 발달에 가장 결정적인 시간으로 인식되는 시점은 부화 전 수일부터 부화 후 수일간이다. 부화 전후의 충분한 영양소 공급은 배아의 최종 발달과 병아리의 초기 성장에 결정적 기여를 한다고 볼 수 있다. *In ovo feeding*에 의한 탄수화물 또는 아미노산의 공급은 부화 전·후의 소화장기 발달에 긍정적으로 작용한다. Prebiotics과 synbiotics 등에 대한 *in ovo* 주입은 건강한 미생물 균총 형성 등을 제공하여 영양적, 면역적 측면에서 좋은 결과들을 볼 수 있지만, 연구 결과의 수적 제한과 *in ovo* 주입의 양과 주입 부위 및 주입시기 등에 대한 추가적인 연구가 요구된다. 탄수화물을 이용한 *in ovo feeding*은 부화시 체중 증가를 보이지만 육계의 부화 후 능력에는 크게 영향을 보이지 않으며, 탄수화물 주입에 따른 부화율 감소는 기술적 요인(최적 농도, 주입 장소, 부피 등)이 크게 작용하는 것으로 보인다. *In ovo feeding*에 의한 아미노산 공급은 병아리의

세포성 면역와 체액성 면역을 높여 초기 면역 향상에 도움이 되는 것으로 판단된다. *In ovo* feeding은 부화 전후의 최적의 영양소 공급과 면역력 증진 및 질병에 따른 병아리의 스트레스를 완화시켜주는 실용적인 기술이 될 수 있다.

사 사

이 논문은 2018~2020학년도 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구 되었습니다.

REFERENCES

- Al-Murrani WK 1982 Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. *Brit Poult Sci* 23(2):171-174.
- Bakayaraj S, Bhanja SK, Majumdar S, Dash B 2011 Modulation of post hatch growth and immunity through *in ovo* supplemented nutrients in broiler chickens. *J Sci Food Agric* 92(2):313-320.
- Barrow PA 1994 The microflora of the alimentary tract and avian pathogens: Translocation and vertical transmission. Pages 117-138 In: Board RG, Fuller R, eds. *Microbiology of the Avian Egg*. New York City, NY: Springer US.
- Batal A, Parsons C 2002 Effect of fasting versus feeding oasis after hatching on nutrient utilization in chicks. *Poult Sci* 81(6):853-859.
- Berrang ME, Frank JF, Buhr RJ, Bailey JS, Cox NA, Mauldin JM 1997 Microbiology of sanitized broiler hatching eggs through egg production period. *J Appl Poult Res* 6(3):298-305.
- Bhanja SK, Mandal AB 2005 Effect of *in ovo* injection of critical amino acids on pre-and post-hatch growth, immunocompetence and development of digestive organs in broiler chickens. *Asian Australas J Anim Sci* 18(4):524-531.
- Bhanja SK, Mandal AB, Agarwal SK, Majumdar S 2008 Effect of *in ovo* glucose injection on the post-hatch growth, digestive organ development and blood biochemical profiles in broiler chickens. *Indian J Anim Sci* 78(8):869-872.
- Bhanja SK, Mandal AB, Johri TS 2004 Standardization of injection site, needle length, embryonic age and concentration of amino acids for *in ovo* injection in broiler breeder eggs. *Indian J Poult Sci* 39(2):105-111.
- Bhanja SK, Sudhagar M, Pandey N, Goel A, Mehra M, Majumdar S 2010 Modulation of immunity genes through *in ovo* supplemented amino acids in broiler chickens. Pages 23-27 In: *Proc. XIIIth Eur Poult Conf.*
- Bigot K, Mignon-Grasteau S, Picard M, Tesseraud S 2003 Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. *Poult Sci* 82(5):781-788.
- Binek M, Borzemska W, Pisarski R, Błaszczyk B, Kosowska G, Malec H 2000 Evaluation of the efficacy of feed providing on development of gastrointestinal microflora of newly hatched broiler chickens. *Arch Geflü* 64:147151.
- Boersma S, Robinson F, Renema R, Fasenko G 2003 Administering oasis hatching supplement prior to chick placement increases initial growth with no effect on body weight uniformity of female broiler breeders after three weeks of age. *J Appl Poult Res* 12:428-434.
- Crhanova M, Hradecka H, Faldynova M, Matulova M, Havlickova H, Sisak F, Rychlik I 2011 Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection. *Infect Immun* 79(7):2755-2763.
- Decuypere E, Tona K, Bruggeman V, Bamelis F 2001 The day-old chick, a crucial hinge between breeders and broilers. *World's Poult Sci J* 57(2):127-138.
- de Oliveira JE, Uni Z, Ferket PR 2008 Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. *World's Poult Sci J* 64(4):488-499.
- De Reu K, Grijspeerd K, Messens W, Heyndrickx M, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L 2006 Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *Int J Food Microbiol* 112(3):253-260.
- Dibner JJ, Richards JD 2004 The digestive system: Challenges and opportunities. *J Appl Poult Res* 13(1):86-93.
- Dibner JJ, Richards JD, Knight CD 2008 Microbial imprinting in gut development and health. *J Appl Poult Res* 17(1):174-188.
- Druyan S 2010 The effects of genetic line (broilers vs. layers)

- on embryo development. *Poult Sci* 89(7):1457-1467.
- Ebrahimi MR, Jafari Ahangari Y, Zamiri MJ, Akhlaghi A, Atashi H 2012 Does preincubational *in ovo* injection of buffers or antioxidants improve the quality and hatchability in long-term stored eggs? *Poult Sci* 91(11):2970-2976.
- Emmerson DA 1997 Commercial approaches to genetic selection for growth and feed conversion in domestic poultry. *Poult Sci* 76(8):1121-1125.
- Ferket PR 2001 Embryo epigenetic response to breeder management and nutrition In: World's Poult Congress. Salvador Proceedings; Available from: http://www.facta.org.br/wpc2012-cd/pdfs/plenary/Peter_R_Ferket.pdf
- Fuller R 1989 Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66(5):365-378.
- Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F 2009 Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. *FEMS Microbiol Rev* 33(4):718-738.
- Geyra A, Uni Z, Sklan D 2001 Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poult Sci* 80(6):776-782.
- Gleeson TM, Stravic S, Blanchfield B 1989 Protection of chicks against *Salmonella* infection with a mixture of pure culture of intestinal bacteria. *Avian Dis* 33(4):636-642.
- Gonzales E, Kondo N, Saldanha E, Loddy M, Careghi C, Decuypere E 2003 Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poult Sci* 82(8):1250-1256.
- Gore AB, Qureshi MA 1997 Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. *Poult Sci* 76(7):984-991.
- Grodzik M, Sawosz F, Sawosz E, Hotowy A, Wierzbicki M, Kutwin M, Jaworski S, Chwalibog A 2013 Nano-nutrition of chicken embryos. The effect of *in ovo* administration of diamond nanoparticles and L-glutamine on molecular responses in chicken embryo pectoral muscles. *Int J Mol Sci* 14(11):23033-23044.
- Halevy O, Yahav S, Rozneboim I 2006 Enhancement of meat production by environmental manipulation in embryo and young broilers. *World's Poult Sci J* 62(3):485-497.
- Hardin G 1960 The competitive exclusion principle. *Science* 131(3409):1292-1297.
- Havenstein GB, Ferket PR, Qureshi MA 2003 Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult Sci* 82(10):1500-1508.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR 2001 Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *Br Poult Sci* 42(4):505-513.
- Iliina LA, Yildirim EA, Nikonov IN, Filippova VA, Laptev GY, Novikova NI 2016 Metagenomic bacterial community profiles of chicken embryo gastrointestinal tract by using T-RFLP analysis. *Dokl Biochem Biophys* 466:47-51.
- Jin SH, Corless A, Sell JL 1998 Digestive system development in post hatch poultry. *World's Poult Sci J* 54(4):335-345.
- Kadam MM, Barekatin MR, Bhanja SK, Iji PA 2013 Prospects of *in ovo* feeding and nutrient supplementation for poultry: The science and commercial applications—a review. *J Sci Food Agric*. 93(15):3654-3661.
- Kadam MM, Bhanja SK, Mandal AB, Thakur R, Vasani P, Bhattacharyya A, Tyagi JS 2008 Effect of *in ovo* threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *Br Poult Sci* 49(6):736-741.
- Keller LH, Benson CE, Krotec K, Eckroade RJ 1995 *Salmonella enteritidis* colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. *Infect Immun* 63(7):2443-2449.
- Keshavarz K, Jackson ME 1992 Performance of growing pullets and laying hens fed low protein amino acid supplemented diets. *Poult Sci* 71(5):905-918.
- Kidd MT 2004 Nutritional modulation of immune function in broilers. *Poult Sci* 83(4):650-657.
- Kizerwetter-Świda M, Binek M 2008 Bacterial microflora of the chicken embryos and newly hatched chicken. *J Anim Feed Sci* 17(2):224-232.
- Klasing KC 1998 *Comparative Avian Nutrition*. CAB International, Wallingford.
- Kornasio R, Halevy O, Kedar O, Uni Z 2011 Effect of *in ovo* feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. *Poult*

- Sci 90(7):1467-1477.
- Leitão R, Leandro N, Stringhini J, Café M, Andrade M 2010 Inoculação de maltose, sacarose ou glicose em ovos embrionados de baixo peso. *Acta Scientiarum Animal Sci* 32(1):93-100.
- Lu JW, McMurtry JP, Coon CN 2007 Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. *Poult Sci* 86(4):673-683.
- Madej JP, Stefaniak T, Benarczyk M 2015 Effect of *in ovo*-delivered prebiotics and synbiotics on lymphoid-organs morphology in chickens. *Poult Sci* 94(6):1209-1219.
- Murakami H, Akiba Y, Horiguchi M 1992 Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chick with or without removal of residual yolk. *Growth Dev Aging* 56(2):75-84.
- Noy Y, Sklan D 1999 Different types of early feeding and performance in chicks and poults. *J Applied Poult Res* 8(1):16-24.
- Noy Y, Uni Z 2010 Early nutritional strategies. *World Poultry Sci J* 66(4):639-646.
- Ohta Y, Kidd MT 2001 Optimum site for *in ovo* amino acid injection in broiler breeder eggs. *Poult Sci* 80(10):1425-1429.
- Pan D, Yu Z 2014 Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes* 5(1):108-119.
- Pedrosa AA 2009 Which came first: The egg or its microbiota? *Poult Inform Prof* 1-5. Available from: https://www.researchgate.net/publication/257367431_Which_came_first_the_egg_or_its_microbiota.
- Pedroso AA, Batal AB, Lee MD 2016 Effect of *in ovo* administration of an adult-derived microbiota on establishment of the intestinal microbiome in chickens. *Am J Vet Res* 77(5):514-526.
- Pruszyńska-Oszmalek E, Kolodziejcki PA, Stadnicka K, Sassek M, Chalupka D, Kuston B, Nogowski L, Mackowiak P, Maiorano G, Jankowski J, Bednarczyk M 2015 *In ovo* injection of prebiotics and synbiotics affects the digestive potency of the pancreas in growing chickens. *Poult Sci* 94(8):1909-1916.
- Retes P, Clemente A, Neves D, Espósito M, Makiyama L, Alvarenga R, Pereira L, Zangeronimo M 2018 *In ovo* feeding of carbohydrates for broilers—a systematic review. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 102(2):361-369.
- Roto S, Kwon Y, Rieke S 2016 Applications of *in ovo* technique for the optimal development of the gastrointestinal tract and the potential influence on the establishment of its microbiome in poultry. *Front Vet Sci* 3:63.
- Salmanzadeh M 2012 The effects of *in-ovo* injection of glucose on hatchability, hatching weight and subsequent performance of newly-hatched chicks. *Rev Bras Cienc Avic* 14(2):137-140.
- Shafey T, Alodan M, Al-Ruqaie I, Abouhief M 2012 *In ovo* feeding of carbohydrates and incubated at a high incubation temperature on hatchability and glycogen status of chicks. *South African J Anim Sci* 42(3):210-220.
- Sharma J, Burmester B 1982 Resistance of Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpes virus. *Avian Dis* 26(1):134-149.
- Shira EB, Sklan D, Friedman A 2005 Impaired immune responses in broiler hatchling hindgut following delayed access to feed. *Vet Immunol Immunopathol* 105(1):33-45.
- Sklan D, Noy Y 2000 Hydrolysis and absorption in the small intestines of post hatch chicks. *Poult Sci* 79(9):1306-1310.
- Slawińska A, Siwek M, Żylińska J, Bardowski J, Brzezińska J, Gulewicz KA, Nowak M, Urbanowski M, Płowiec A, Bednarczyk M 2014 Influence of synbiotics delivered *in ovo* on immune organs development and structure. *Folia Biol (Kraków)* 62(3):277-285.
- Smirnov A, Tako E, Ferket PR, Uni Z 2006 Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by *in ovo* feeding of carbohydrates. *Poult Sci* 85(4):669-673.
- Stockdale FE 1992 Myogenic cell lineages. *Dev Biol* 154(2):284-298.
- Tako E, Ferket PR, Uni Z 2004 Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poult Sci* 83(12):2023-2028.
- Tieshan J, Mandal RK, Wideman RF Jr, Lohemann T, Kwon YM 2014 Molecular survey of the microbiomes in broilers of BCO lameness. Symposium on Gut Health in Production of Food Animals Nov 10-12. St. Louis, MI.

- Uni Z 2006 Early development of small intestinal function. Pages 29-43 In: Avian Gut Function in Health and Disease. Perry, GC ed. Carfax Publ. Co., Oxfordshire, UK.
- Uni Z, Ferket R 2004 Methods for early nutrition and their potential. World Poult Sci J 60(1):101-111.
- Uni Z, Smirnov A, Sklan D 2003a. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. Poult Sci 82(2):320327.
- Uni Z, Tako E, Gal-Garber O, Sklan D 2003b Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. Poult Sci 82(11):1747-1754.
- Vieira SL, Moran ET 1999 Effect of egg origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. World's Poult Sci J 55(2):125-142.
- Willemsen H, Debonne M, Swennen Q, Everaert N, Careghi C, Han H 2010 Delay in feed access and spread of hatch: Importance of early nutrition. World Poult Sci J 66(2): 177-188.
- Yamauchi, K, Kamisoyama H, Isshiki Y 1996 Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. Br Poult Sci 37(5):909-921.
- Yamawaki RA, Milbradt EL, Coppola MP, Rodrigues JCZ, Andreatti Filho RL, Padovani CR, Okamoto AS 2013 Effect of immersion and inoculation *in ovo* of *Lactobacillus* spp. in embryonated chicken eggs in the prevention of *Salmonella enteritidis* after hatch. Poult Sci 92(6):1560-1563.
- Zhai W, Rowe DE, Peebles ED 2011 Effects of commercial *in ovo* injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. Poult Sci 90(6):1295-1301.
- Zuidhof MJ, Schneider BL, Carney VL, Korver DR, Robinson FE 2014 Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. Poult Sci 93(12): 1-13.

Received Mar. 7, 2019, Revised Mar. 15, 2019, Accepted Mar. 19, 2019