

유산균의 급여가 육계 생산성, 장내 미생물 균총, 회장 용모 발달 및 장점막에 미치는 영향

김상호* · 김동욱* · 박수영** · 김지혁* · 강근호* · 강환구* · 유동조* · 나재천* · 이상진*

농촌진흥청 축산과학원 가금과*, 농협사료**

Effect of Dietary *Lactobacillus* on Growth Performance, Intestinal Microflora, Development of Ileal Villi, and Intestinal Mucosa in Broiler Chickens

Sang Ho Kim*, Dong Wook Kim*, Su Young Park**, Ji Hyuk Kim*, Geun Ho Kang*, Hwan Ku Kang*,

Dong Jo Yu*, Jae Cheon Na* and Sang Jin Lee*

Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, R.D.A, Korea*,

Nonghyup Feed Inc., Korea**

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate the effects of dietary supplementation of various *Lactobacilli* strains on growth performance, intestinal microflora, ileal villi development and ileal mucosal surface of broiler chickens. Six hundred 1-d-old male chicks (Avian) were randomly divided into five groups of four replicates, each replicates containing 30 birds and fed corn-soybean meal diets containing *Lactobacillus* were isolated from cecum of chickens at 10^7 cfu/g diet for five weeks. The treatments were control (antibiotics-free diet), *Lactobacillus crispatus* avibro1 (LCB), *Lactobacillus reuteri* avibro2 (LRB), *Lactobacillus crispatus* avihen1 (LCH) or *Lactobacillus vaginalis* avihen2 (LVH). The body weight gain in groups fed *Lactobacillus* significantly improved as compared to those of control ($P<0.05$). Feed intake was not statistically different among the groups. The number of *Lactobacillus* in ileum and cecum of chicks fed various *Lactobacillus* tended to be increased or significantly increased as compared to those of the control ($P<0.05$), but there was difference by age of chicks and species of *Lactobacillus*. The number of yeast was significantly increased in cecum and ileum at three weeks old chicks fed *Lactobacilli* compared with the control ($P<0.05$). The anaerobes' number of ileum and cecum tended to increase or significantly increased in *Lactobacillus* treatments compared with the control ($P<0.05$). The ileal villi length extended greatly at three weeks of age in groups fed *Lactobacillus* compared with the control ($P<0.05$). The length of ileal villi in chicks fed *Lactobacillus* was continuously increased up to five weeks of age, but did not increased in the control ($P<0.05$). *Lactobacillus* was found on ileal mucosal surface. And ileal mucosal surface was maintained better with *Lactobacillus* feeding. These results suggest the possibility that cecal *Lactobacillus* of chickens could be used as probiotics by improving the growth performance and promoting development of ileal villi in broiler chicks.

(Key words : *Lactobacillus*, Broiler, Growth performance, Intestinal microflora, Ileal villi, Intestinal mucosa)

Corresponding author : S. H. Kim, National Institute of Animal Science, R.D.A, Korea
Tel : 041-580-6709, Fax : 041-580-6719, E-mail : shkim@rda.go.kr

I. 서 론

오늘날 환경 오염, 동물 복지, 안전 축산물 등에 대한 관심이 고조되면서 과거 생산성 향상 위주의 축산은 환경 친화적인 측면까지 고려해야 하는 산업으로 변모하고 있으며 친환경 축산의 육성은 자연 순환 농업으로 나아가기 위한 필수적인 과제 중 하나이다. 이에 따라 항생제 및 호르몬제 사용량 감소, 분뇨 내 질소, 인 배출량 및 유해가스 발생량 감소는 필수 조건으로 이를 위한 친환경 사료의 개발이 요구되고 있으며 이로 인해 천연물, 생균제 및 효소제 등이 주목 받고 있다.

생균제라는 용어는 1970년대에 들어 처음으로 사용되기 시작하였는데 Fuller (1992)는 생균제를 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주 동물에 유익한 영향을 주는 살아있는 미생물이라고 정의하였다. 가금에서 장내 미생물 균총은 일반적으로 주변 환경의 영향에 따라 부화 후 1주일 이내에 확립되는 것으로 알려져 있다 (Fuller, 1989). 장내 미생물의 종류 및 수는 병원성 세균의 침입에 대한 방어에 있어 매우 중요하고, 장내 미생물 균총이 안정화된 후에는 이들의 증식이 계속되면서 다른 세균의 증식을 견제하기 때문에 가축의 건강 상태가 양호하게 유지되며, 장내 환경의 급격한 변화가 없는 한 가축은 일생 동안 거의 균형을 유지하며 살아간다. 정상적인 장내 미생물 균총은 사료 내 영양소의 이용성을 증진시키며, 병원성 미생물의 집락 방지 등의 작용을 한다. 생균제는 이러한 정상적인 장내 미생물 균총이 안정화될 수 있도록 돕는다. 생균제로 주로 이용되고 있는 미생물 가운데 하나인 유산균의 효과는 많은 연구들을 통해 보고되어 왔다. 유산균은 가축의 성장을 촉진하고 (Watkins 등, 1982) 가축의 장내에서 *E. coli*를 억제하며, *Salmonella*와 *Campylobacter*의 증식을 조절하여 (Fuller, 1973; Dunham 등, 1993) 장내 유익한 미생물의 수를 증가시켜 장내 환경을 개선시킬 수 있다는 연구 결과들이 보고되었다. 또한 Fuller (1989) 및 Impey와 Mead (1989)는 유산균 등의 유익균은 장점막 상피세포에 부착, 서식하면서 영양소의

분해와 흡수를 돕고 경쟁적 배제를 통해 병원성 미생물의 집락화를 억제하여 상피세포를 보호하는 역할을 수행한다고 하였다. 또한 Smith (1985)는 유산균에서 생산되는 효소 등의 대사 물질이 점막세포의 분화 및 성숙을 증가시킨다고 보고하였으며 Sakata (1987) 및 Hill 등 (1990)은 장내 미생물에 의하여 생산된 butyrate는 용모와 crypt의 발달에 긍정적인 영향을 미친다고 보고하였다.

따라서 본 시험에서는 유산균을 육계 사료에 첨가 급여하여 생산성 및 장내 미생물에 미치는 영향을 구명하고 그것과 연계하여 성장 단계별 용모 및 점막 조직의 변화를 확인하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험동물 및 시험설계

사료 내 유산균의 첨가가 육계 생산성, 장내 미생물 균총 및 회장 점막 발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 1일령 육계 수평아리 (Avian) 600수를 공시하여 5처리, 4반복, 반복당 30수씩 배치하여 5주간 사양시험을 실시하였다. 처리구는 대조구와 유산균 첨가구 4처리로 나누었다. 유산균 첨가구에는 4종의 유산균을 각각 사료 내 10^7 cfu/g 수준으로 첨가하였다.

2. 시험사료 및 사양관리

시험사료는 NRC (1994)에 근거하여 단백질과 에너지 함량을 동일하게 배합하였으며, 육계전기 (0~3주)와 육계후기 (3~5주) 사료로 나누어 공급하였다. 시험 사료 조성은 Table 1에 나타내었다. 시험 전기간 동안 평사에서 사육하였으며 사료 급여기 및 급수기의 개수는 반복구별 동일하게 배치하였다. 사료와 물은 자유 채식 및 자유 음수 시켰으며, 입추 후 3일간 24시간 점등을 실시하였고 이후 7일령까지 23시간 점등을 실시하였다. 8일령부터 시험 종료시까지는 야간간헐점등을 하여 일조시간이 16~18시간이 되도록 하였다. 광도는 시험 전기간

Table 1. Composition of the basal diet

Ingredients, %	Starter (0~3wk)	Finisher (3~5wk)
Corn	53.29	61.65
Soybean Meal	33.91	27.88
Corn Gluten Meal	4.01	4.00
Soybean oil	4.73	3.06
Limestone	1.02	1.22
Tricalcium phosphate	2.00	1.31
Salt	0.25	0.25
DL-Methionine	0.27	0.07
Lysin-HCl	0.01	0.05
Vitamin-mineral mixture ¹⁾	0.50	0.50
Total	100.0	100.0
Calculated value ²⁾		
ME, kcal/kg	3,100	3,100
Crude Protein, %	22.0	20.0
Methionine, %	0.50	0.38
Lysine, %	1.10	1.00
Ca, %	1.00	0.90
Available P, %	0.45	0.35

¹⁾ Vitamin-mineral mixture provided the following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000IU; vitamin D₃, 1,500 IU; vitamin E, 20.0 IU; vitamin K₃, 0.70mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5.0 mg; folic acid, 0.70 mg; pyridoxin, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; choline chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg;

²⁾ Calculated values.

10~15 Lux가 되게 하였다. 백신 프로그램은 1일령에 ND 및 IB 혼합 백신을, 7일령에 IBD 백신을 점안 접종하였으며, 14일령에 ND 및 IB 혼합 백신, 21일령에 IBD 백신을 음수 접종하였다.

3. 시험 균주

본 연구에 사용된 유산균은 *Lactobacillus crispatus avibro1* (LCB, KFCC-11195), *Lactobacillus reuteri avibro2* (LRB, KFCC-11195), *Lactobacillus crispatus avihen1* (LCH, KFCC-11195), *Lactobacillus vaginalis avihen2* (LVH, KFCC-11195) 4종으로 LCB와 LRB는 5주령 육계 맹장에서 LCH와 LVH는 28주령 산란계 맹장에서 분리하여 유기산 생성 능력, 내산성 및 내담즙성이 우수한

균주를 선발한 후 16rRNA 분석 방법을 이용하여 유연관계를 조사하여 동정, 명명한 것이다.

4. 유산균 첨가 및 사료 급여 방법

유산균을 MRS broth (Difco, USA)에 접종하여 37°C CO₂ 배양기 (Forma 311, Forma Scientific Inc., USA)에서 18~20시간 배양하였으며 원심분리 (4°C, 4,000 rpm × 10 minutes)하였다. 원심분리 후 상층액을 제거하여 유산균을 분리하였으며, 분리된 유산균의 생균수를 측정하고 증류수를 넣어 10⁸ cfu/mL가 되도록 희석하였다. 10⁸ cfu/mL 농도로 희석된 유산균 용액 100 mL과 사료 900 g을 혼합하여 사료 내 유산균 수가 10⁷ cfu/g가 되도록 하였다. 사료 내 수분 및 영양소 함량을 동일하게 하기 위하여 대조구 사료에도 동일한 양의 증류수를 혼합하였다. 증류수 및 유산균 용액을 기초사료와 혼합하기 이전에 기초사료를 35°C 송풍건조기 (J-300S, JISICO, Korea)에서 건조시켜 사료 내 수분 함량이 3% 이내가 되도록 하였다. 저장 및 보관 과정에서의 변이를 최소화하고 균주 자체의 효과를 보다 분명히 보기 위하여 유산균을 매일 배양하고, 사료를 2일분씩 배합한 후 급여하였다. 배합된 시험사료의 1/2은 배합 당일 급여하였으며, 나머지 사료는 균주 보존 및 유지를 위해 37°C 배양기에서 보관한 후 2일째에 급여하였다. 당일 배합된 시험사료와 2일째 급여된 사료 내 유산균 수를 측정하여 10⁷ cfu/g 수준임을 확인하였다.

5. 조사항목 및 조사방법

(1) 육계 생산성

매주 동일한 시간에 체중을 측정하여 주령별 체중 및 증체량을 구하였다. 매일 급여량과 잔량을 조사하였으며, 매주 급여된 사료와 사료 잔량의 수분을 측정하여 보정 계산한 후 사료 섭취량을 구하였다. 조사된 사료섭취량과 증체량을 통해 사료요구율을 산출하였다.

(2) 장내 미생물 균총 변화

장내 미생물 군총의 변화를 조사하기 위해서 1, 3, 5주차에 생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별 4수씩 희생시켜 회장 및 맹장 내용물을 채취하였다. 회장 내용물은 Meckel's diverticulum 부위에서 아래쪽으로 5 cm 정도 절단하여 채취하였으며, 맹장 내용물은 양쪽 맹장의 내용물을 혼합하여 사용하였다. *Lactobacillus*, yeast 및 anaerobes의 수를 측정하기 위해 채취된 회장 및 맹장 내용물을 생리식염수로 10^{-9} 까지 계단 희석하여 단계적으로 희석된 내용물을 Rogosa agar (Difco, USA), Yeast morphology agar (Difco, USA) 및 Anaerobic agar (Difco, USA) 평판 배지에 각각 접종하였다. 혐기적 또는 호기적 조건으로 37°C에서 24시간 배양한 후 균수를 측정하여 내용물 1g 당 cfu(colony forming unit)로 계산한 후 \log_{10} 으로 환산 표기하였다.

(3) 회장 용모 발달

회장 용모의 일반적인 조직 변화상을 관찰하기 위하여 1, 3, 5주차에 체중이 비슷한 개체를 처리구별 4수씩 희생시켜 회장 점막을 채취하여 10% 중성 포르말린으로 고정하고 일반적인 조직표본제작방법에 의하여 파라핀에 포매한 후 microtome (Shandon Hypercut, England)으로 5 μ m 두께의 절편을 제작하였다. 회장의 조직 변화상을 관찰하기 위하여 Hematoxylineosin 염색을 실시하고 광학 현미경으로 관찰하고, 촬영한 후 영상분석기 (Leica Q500MC, Germany)를 이용하여 회장 용모의 길이를 측정한 후 도표를 작성하였다.

(4) 회장 점막 및 유산균 미세구조

회장의 점막과 유산균의 미세구조를 관찰하기 위하여 채취된 조직을 2.5% glutaraldehyde로 전고정하고 인산완충액 (pH 7.4)으로 세척한 후 1% osmiumtetroxide에 후고정하였다. 에탄올을 이용하여 탈수하고 isoamyl acetate로 치환한 후 hexamethyl-disilazane으로 건조시킨 다음 gold sputter coater (Ladd 30800)로 도금하여 주사 전자현미경 (Scanning electron microscope: SEM, JEM 5310LV, Japan)으로 관찰하고 촬영하였다.

6. 통계처리

실험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002)의 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리구간에 유의성은 Duncan's multiple range-test (Duncan, 1955)를 이용하여 5% 수준에서 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 육계 생산성

유산균이 육계 생산성에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 5주 종료체중 및 증체량은 LCB 처리구를 제외한 모든 유산균 처리구에서 대조구에 비해 유의하게 증가하였다 ($P < 0.05$). 사료섭취량은 처리구 간 차이가 관찰되지 않았으며, 사료요구율에 있어서는 LRB 첨가시 다소 개선되는 경향을 보였다 ($P < 0.05$). Jin 등 (1998)은 유산균 배양물을 육계에 첨가시 증체량이 향상되었다고 하였으며, Mohan 등 (1996)은 *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Aspergillus oryzae*, *Torulopsis* 등이 포함된 생균제 100 mg/kg을 첨가했을 때 증체량이 5~9% 증가했다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 또한 Fuller (1989)는 유산균은 장관 내에서 단백질, 비타민, 효소 등을 합성하여 가축에 긍정적인 영향을 미치며 영양소 소화율 개선 및 장관 면역 발달에 관여하여 가축 생산성을 향상시킬 수 있다고 보고하였다. 한편, Yeo와 Kim (1997)은 육계에 *Lactobacillus casei*를 첨가한 시험에서 전기 3주령까지는 일당 증체량이 유의적으로 증가를 했으나 후기 4~6주령에는 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. 그러나 유산균 급여로 증체가 개선되지 않았다는 보고도 있는데 (Watkins와 Kratzer, 1983; Maiolino 등, 1992), 이러한 차이는 급여된 균의 생존 여부와 가축의 스트레스 강도 차이에 기인한다 (Jin 등, 1998). 본 연구 결과 유산균 첨가 급여는 생산성에 긍정적인 영향을 미쳤는데 이는 장내 미

Table 2. Effects of dietary *Lactobacillus* on growth performance in broiler chickens

Items	Strains of <i>Lactobacillus</i> ¹⁾					SEM
	Control	LCB	LRB	LCH	LVH	
Initial BW, g/bird	46.2	46.4	46.0	45.9	46.2	0.16
Final BW, g/bird	1,706 ^b	1,741 ^{ab}	1,808 ^a	1,782 ^a	1,780 ^a	11.89
BW gain, g/bird	1,660 ^b	1,695 ^{ab}	1,762 ^a	1,736 ^a	1,734 ^a	8.03
Feed intake, g/bird	2,582	2,644	2,574	2,683	2,626	21.87
Feed conversion ratio	1.54 ^{ab}	1.56 ^a	1.46 ^b	1.55 ^{ab}	1.51 ^{ab}	0.02

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

^{a,b} Means with the different superscripts differ significantly (P<0.05).

생물이 정착하는 초기 유익 세균총의 성립과 안정화에 따른 장내 환경 개선 및 정착된 유산균이 생산하는 비타민, 유기산 및 효소 등의 대사 산물에 기인한 것으로 사료된다.

2. 장내 미생물 변화

회장 및 맹장 내 미생물 변화는 Table 3과 Table 4에서 나타낸 바와 같으며 유사한 경향을 보였다. 회장 및 맹장 내 유산균의 경우 주령 및 유산균의 종류에 따른 차이를 보이긴 하였으나 일반적으로 유산균 첨가시 대조구에 비

해 유의하게 증가하는 경향을 보였다. 또한 유산균 첨가에 따른 차이는 3주령 및 5주령에 비해 1주령에서, 맹장에 비해 회장에서 더 큰 것으로 나타났다. 이는 장내 미생물 군총이 형성되는 초기 유산균의 급여가 보다 큰 영향을 미친 것으로 보이며, 회장의 경우 사료의 직접적인 영향을 받기 때문에 유산균의 첨가에 의한 영향이 컸으며, 맹장의 경우 회장에 비해 보다 안정적인 미생물 군집을 유지하고 있기 때문에 이런 결과를 보인 것으로 판단된다. 회장 내 효모의 경우 1주령에서 관찰되지 않았는데 이는 실험시 높은 희석 비율에 기인한 것으로 생

Table 3. Effects of dietary *Lactobacillus* on ileal microflora in broiler chickens

Items	Strains of <i>Lactobacillus</i> ¹⁾					SEM
	Control	LCB	LRB	LCH	LVH	
..... log ₁₀ cfu/g content						
<i>Lactobacillus</i> spp.						
1 wk	6.917 ^c	8.333 ^{abc}	9.201 ^{ab}	7.334 ^{bc}	9.500 ^a	0.36
3 wk	7.646	8.770	8.519	8.308	8.081	0.17
5 wk	7.556 ^b	8.525 ^{ab}	9.548 ^a	8.770 ^{ab}	8.589 ^{ab}	0.24
Yeast						
1 wk	ND	ND	ND	ND	ND	
3 wk	7.161	7.270	7.338	7.920	8.460	0.21
5 wk	9.979	10.393	10.290	11.025	10.831	0.15
Anaerobes						
1 wk	7.259	8.239	9.389	9.667	9.201	0.50
3 wk	7.575 ^b	9.040 ^a	9.167 ^a	8.616 ^a	8.994 ^a	0.18
5 wk	8.586 ^b	10.832 ^a	10.339 ^a	11.162 ^a	10.598 ^a	0.25

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

^{a,b} Means with the different superscripts differ significantly (P<0.05).

각되며, 3주령 및 5주령에 있어서는 유산균 첨가에 따른 처리간 차이가 관찰되지 않았다. 반면 맹장에서는 유산균 첨가시 대조구에 비해 효모의 수가 유의하게 증가하였으며 ($P<0.05$), 특히 산란계 유래 유산균인 LCH, LVH 첨가구가 높은 것으로 나타났다 ($P<0.05$). 혐기성 미생물 역시 유산균 첨가시 유의하게 증가하거나, 증가하는 경향을 볼 수 있었으며 ($P<0.05$), 그 변화 양상은 회장과 맹장에서 유사하게 나타났다. 일반적으로 유산균의 첨가 급여는 장관 내 유산균의 집락 형성 및 서식을 증가시키고, 이들이 생산하는 유기산 등의 대사 산물이 장관 pH 등 장내 환경을 조정하여 효모 등의 유익균이 서식, 증식하는데 긍정적인 영향을 미친다고 알려져 있다 (Nurmi와 Rantala, 1973; Fuller, 1989; Jin 등, 1996). 또한 Prins (1977)는 장내 유산균에 의해 생산된 lactic acid는 다른 장관 내 미생물의 주요 성장 기질로 이용된다고 하였다. 그러나 이러한 유산균 및 복합 생균제 또는 그 배양물의 급여가 장내 미생물에 미치는 효과에 대해서는 상이한 결과들이 보고되어 왔다. Jin 등 (1996)은 10일령의 육계에 유산균을 급여한 시험에서 장내 유산균의 수가 유의하게 증가하였다고 보고하였으며, 반면 Alder

와 DaMass (1980)는 부화 당일 유산균을 급여하였을 때, 맹장 내 미생물 군중에 변화가 없었다고 보고하였다. 또한 유산균 배양물의 급여시 유산균, 혐기성 미생물 등에 영향을 미치지 않았다고 보고된 바 있다 (Jin 등, 1996). 이는 가축의 건강 상태 및 이미 정착되어 있는 장내 군중 상태, 급여된 군중의 차이 및 생균수 등 다양한 요인이 작용하기 때문으로 본 연구 결과, 유산균의 종류 및 주령에 따라 약간의 차이가 있긴 하였으나 전반적으로 유산균 첨가 급여시 유산균 및 다른 유익균의 수가 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 이는 유산균이 장관 내 pH 조정 및 대사물질 생산을 통해 효모 및 혐기성 미생물 등의 유익균이 장내 증식하는데 긍정적인 영향을 미친 것으로 판단된다.

3. 회장 용모 발달

유산균의 첨가 급여가 회장 용모 길이에 미치는 영향은 Table 4와 Fig. 1에 제시하였다. 전체적으로 회장 용모는 3주령까지 급격하게 길이가 신장되는 것으로 나타났다. 3주령 이후에는 용모의 신장은 완화되는 반면 용모 조직의 두께가 두꺼워지는 양상을 보였다. 용모 길이

Table 4. Effects of dietary *Lactobacillus* on cecal microflora in broiler chickens

Items	Strains of <i>Lactobacillus</i> ¹⁾					SEM
	Control	LCB	LRB	LCH	LVH	
 log ₁₀ cfu/g content					
<i>Lactobacillus</i> spp.						
1 wk	8.721 ^c	9.978 ^{abc}	10.548 ^a	9.010 ^{bc}	10.282 ^{ab}	0.24
3 wk	8.926	9.508	9.548	8.653	8.888	0.16
5 wk	8.593 ^{ab}	7.636 ^b	9.258 ^{ab}	9.700 ^a	8.441 ^{ab}	0.22
Yeast						
1 wk	7.774 ^b	9.226 ^{ab}	10.168 ^a	10.695 ^a	9.195 ^{ab}	0.36
3 wk	7.191 ^c	9.253 ^a	8.926 ^{ab}	8.587 ^{ab}	7.905 ^{bc}	0.23
5 wk	8.954 ^b	10.835 ^a	10.923 ^a	11.146 ^a	11.477 ^a	0.22
Anaerobes						
1 wk	7.783 ^b	10.575 ^a	12.049 ^a	11.301 ^a	10.869 ^a	0.36
3 wk	8.401 ^b	9.648 ^a	9.551 ^a	9.002 ^{ab}	8.384 ^b	0.16
5 wk	9.128 ^b	11.216 ^a	10.966 ^a	11.303 ^a	11.477 ^a	0.20

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

^{a-c} Means with the different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

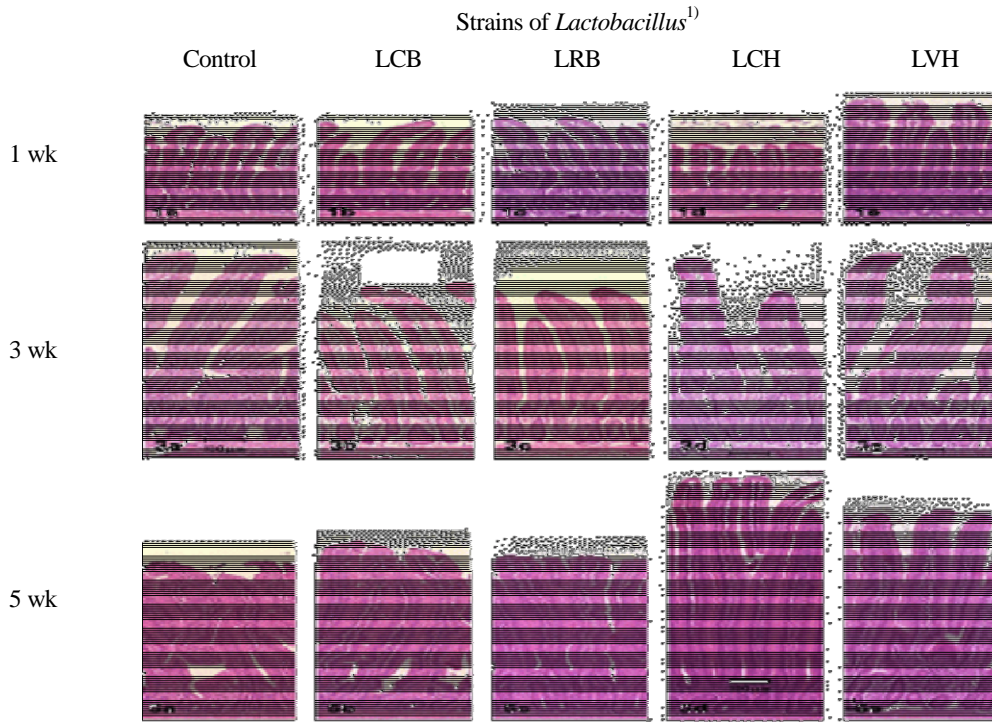


Fig. 1. Effects of dietary *Lactobacillus* on development of ileal villi in broiler chickens.

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

의 처리간 비교에서 있어서는 초기 유사하게 발달하다가 3주차에 LCH 첨가구를 비롯하여 유산균 첨가구가 대조구에 비하여 증가하는 경향을 보였다. 5주차에서는 유산균 무첨가구에서는 3주차와 비교하여 큰 변화가 없었던 반면 유산균 첨가구에서는 지속적으로 신장되어 대조구에 비해 유의하게 증가하였다($P < 0.05$). 광학현미경 관찰에서 융모의 발달과정이 3주령까지는 모든 처리구에서 융모의 길이 및 분화 정도가 충실히 발달하는 모습으로 관찰되었지만 5주령에는 대조구의 융모조직의 분화가 둔화되는 반면, 유산균 첨가구의 융모는 끝부분과 crypt 부분의 발달이 충실한 것으로 나타났다. 유산균은 장벽의 기능을 향상시키는 것으로 알려져 있는데 (Fuller, 1989; Impey와 Mead, 1989), 이는 유산균이 상피세포에 존재하면서 병원성 미생물의 침입을 방지하고 유산균에 의해 생산된 효소가 점막세포의 분화 및 성숙을 증가시킨 결과이다 (Smith, 1985). 소화기관 내 미생물

과 그 대사산물은 점막세포의 재생을 향상시키며, 소화기관 내 존재하는 미생물 군총의 변화에 의하여 융모의 길이 및 crypt의 깊이가 변한다 (Hampson, 1986; Cera 등, 1988). 또한 장내 미생물에 의하여 생산된 butyrate는 융모와 crypt의 발달에 긍정적인 영향을 미친다고 보고된 바 있다 (Sakata, 1987; Hill 등, 1990). 본 연구에서는 장관 내 소화 효소 활성 및 단쇄 지방산을 측정하지는 않아 유산균 대사 물질에 의한 융모 발달 여부는 확인할 수는 없었지만 장내 유산균 수가 증가로 미루어 볼 때 융모 발달에 유산균의 첨가 급여가 긍정적인 영향을 미친 것으로 사료된다.

4. 유산균의 소화기관 내 부착 위치 및 점막에 미치는 영향

Fig. 2는 회장 점막을 SEM으로 촬영한 것으로 점막근처에서 섭취물 또는 유산균이 점막에

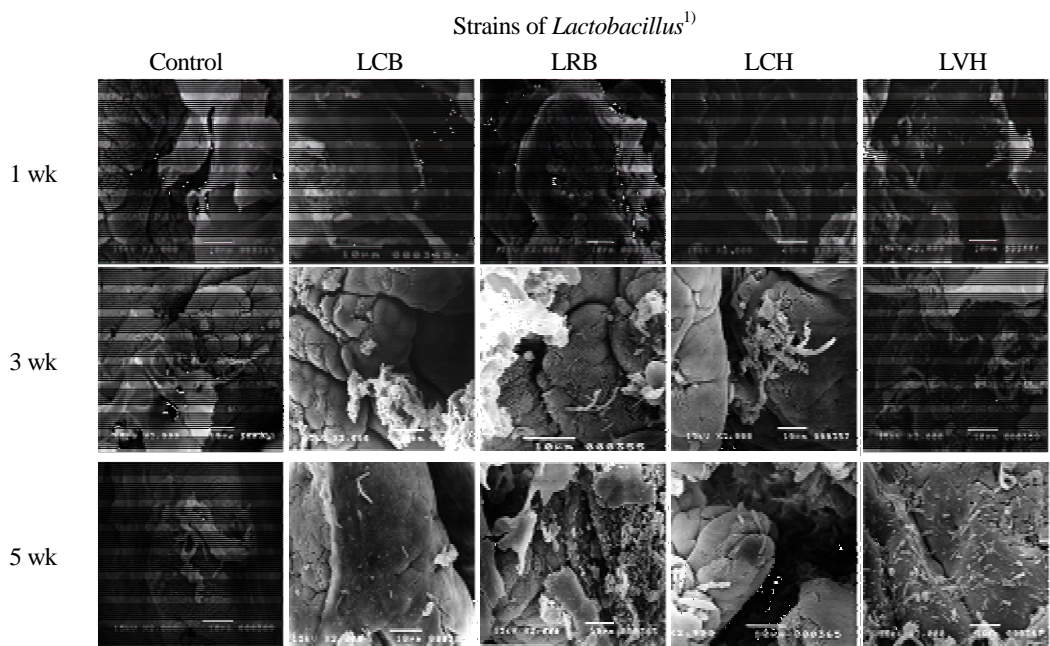


Fig. 2. Microbes associated with epithelial surfaces in ileum of broiler chickens (SEM x2000).

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

부착되어 있는 모습을 볼 수 있었으며, 이를 통해 유산균의 영양소 분해 및 존재 위치가 점막 부근에서 이루어진다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 유산균의 첨가 여부 및 주령 증가에 따라 점막 상태의 변화 역시 볼 수 있었다. 1, 3, 5주차에 처리당 4수씩 조사한 결과 대조구보다 유산균 첨가구의 점막 조직이 양호한 빈도가 더 많았다. 유산균은 소장의 상피세포에 부착하거나 인접하여 존재하는 것으로 알려져 있으며 (Fuller, 1977; Stavric 등, 1987), 유

산균의 상피세포 부착은 여러 가지 이유로 매우 중요하다. 상피세포는 각종 영양소의 흡수가 이루어지는 곳으로 상피세포의 파괴는 영양소의 흡수를 저해하고 숙주동물의 영양상태를 악화시켜 궁극적으로는 생산성을 저하시킨다. 유산균은 상피세포에 인접하여 거주하면서 영양소의 분해와 흡수를 도와주고 상피세포에 대한 병원성 미생물 집락화를 차단하여 상피세포를 보호하는 역할을 수행한다 (Fuller, 1989; Impey와 Mead, 1989). Yamaguchi 등 (1990)은

Table 5. Effects of dietary *Lactobacillus* on length of ileal villi in broiler chickens

Period	Strains of <i>Lactobacillus</i> ¹⁾					SEM
	Control	LCB	LRB	LCH	LVH	
 μm					
1 wk	596	567	495	565	607	77.40
3 wk	931 ^b	935 ^{ab}	947 ^{ab}	1,056 ^a	1,032 ^{ab}	59.99
5 wk	899 ^c	1,061 ^b	1,033 ^b	1,093 ^a	1,130 ^a	70.79

¹⁾ LCB, *Lactobacillus crispatus* avibro1; LRB, *Lactobacillus rueteri* avibro2; LCH, *Lactobacillus crispatus* avihen1; LVH, *Lactobacillus vaginalis* avihen2.

^{a,b} Means with the different superscripts differ significantly (P<0.05).

부착을 통하여 영양소의 흡수를 촉진하고, 점막표면에 균락을 형성하여 병원성 미생물의 침입을 막을 수 있다고 보고하였다. 또한 성장 저하 등의 문제가 발생한 가금의 점막에는 독소를 생산하는 미생물이 부착되어 있는 것이 확인되었다(Lev와 Forbes, 1959). Smith (1985)는 유산균이 상피세포에 존재하면서 병원성 미생물의 침입을 방지하고 유산균에 의해 생산된 효소가 점막세포의 분화 및 성숙을 증가시킨다고 보고하였으며, Cera 등 (1988)은 소화기관 내 미생물과 그 대사물질은 점막세포의 재생을 향상시킨다고 보고하였다. 유산균 첨가 급여는 점막부근에서 활동하는 유산균 수를 증가시켜 점막 상태 개선 및 점막 본연의 역할 수행에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

IV. 요약

본 연구는 유산균의 급여가 육계 생산성, 장내미생물 균총, 용모 발달에 미치는 영향을 구명하고 유산균의 장내 거주 상태와 점막 조직을 관찰하고자 수행되었다. 1일령 육계 수평아리 (Avian) 600수 육계를 공시하여 5처리 4반복 반복당 30수씩 완전 임의배치 하고, 육계 및 산란계의 맹장에서 유래한 *Lactobacillus crispatus* avibro1 (LCB), *Lactobacillus reuteri* avibro2 (LRB), *Lactobacillus crispatus* avihen1 (LCH), *Lactobacillus vaginalis* avihen2 (LVH)을 사료 g당 10^7 cfu 수준으로 급여하였다.

5주 종료체중 및 증체량은 대조구인 유산균 무첨가구에 비해 유산균 첨가구에서 유의적으로 증가하였다 ($P<0.05$). 사료 섭취량은 처리구 간 차이가 나타나지 않았다. 유산균의 경우 주령 및 유산균의 종류에 따라 차이를 보이기는 했으나 유산균 첨가시 대조구에 비해 유의하게 증가하는 경향을 보였다. Yeast의 경우 회장에서 1주령까지는 장내에 완전히 정착하지 못하는 것으로 생각되며, 맹장 및 3주령 이후의 회장에서는 대부분의 유산균 첨가구에서 yeast의 수가 증가하였다 ($P<0.05$). 회장 및 맹장 내 혐기성 미생물 역시 유산균 첨가구에서 유의하게 증가하거나 증가하였다 ($P<0.05$). 광학 현미경적

관찰에서 회장 용모는 3주령까지 급격하게 신장되고 이후 완만한 성장 양상을 보였는데, 3주령 이후 유산균 급여구는 지속적으로 성장하는데 반하여 대조구는 성장이 지연되는 것으로 나타났다 ($P<0.05$). 전자 현미경적 관찰에서 유산균은 소화기관 점막부근에 거주하며 점막조직에 영향을 미치는 것으로 관찰되었고 또, 유산균 급여구가 무첨가에 비하여 점막조직 발달 상태가 양호한 개체가 많았다. 본 연구 결과 육계 및 산란계 유래 유산균의 급여는 육계 생산성을 향상시키고 회장 용모 발달에 긍정적인 영향을 미쳐 생균제로서의 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

(색인어: 유산균, 육계, 생산성, 장내 균총, 회장 용모, 소장 점막)

V. 인용 문헌

1. Adler H. E. and DaMass, A. J. 1980. Effect of ingested *Lactobacilli* on *Salmonella infantis* and *Escherichia coli* and on intestinal flora pasted vents and chick growth. Avian Dis. 24:868-878.
2. Cera, K. R., Mahan, D. C., Cross, R. F., Reinhart, G. A. and Whitmoyer, R. E. 1988. Effect of age weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. J. Anim. Sci. 66:574.
3. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. Biometric. 11:1-42.
4. Dunham, H. J., William, C., Edens, F. W. Casas, I. A. and Dobrogosz, W. J. 1993. *Lactobacillus reuteri* immunomodulation of stressor-associated disease in newly hatched chickens and turkeys. Poult. Sci. 72(Suppl 1):103(abstract).
5. Fuller, R. 1973. Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. J. Appl. Bacteriol. 36:131-139.
6. Fuller, R. 1977. The importance of *Lactobacilli* in maintaining normal microbial balance in crop. Br. Poult. Sci. 18:85-94.
7. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J.

- Appl. Bacteriol. 66:365-378.
8. Fuller, R. 1992. Probiotics The scientific basis. Chapman and Hall. London.
 9. Fuller, R. and Turvey, A. 1971. Bacteria associated with the intestinal wall of the fowl *Gallus domesticus*. J. Appl. Bacteriol. 34:617-622.
 10. Hampson, D. J. 1986 Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. Res. Vet. Sci. 40: 32.
 11. Hill, R. P. H., Cowley, H. M. and Andremont, A. 1990. Influence of colonizing microflora on the mucin histochemistry of the neonatal mouse colon. Histochem J. 22:102-105.
 12. Impey, C. S. and Mead, G. C. 1989. Fate of *Salmonellas* in the alimentary tract of chicks pre-treated with a mature caecal microflora to increase colonization resistance. J. Appl. Bacteriol. 66:469.
 13. Jin L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N. and Jalaudin, S. 1996. Influence of dried *bacillus subtilis* and *Lactobacilli* cultures on intestinal microflora and performance in broilers. Asian-Australian J. Anim. Sci. 9:397-403.
 14. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Ali, M. A. and Jalaudin, S. 1998. Growth performance intestinal microbial populations and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poult. Sci. 77:1259-1265.
 15. Lev, M. and Forbes, M. 1959. Growth response to dietary penicillin of germfree chicks and of chicks with a defined intestinal flora. Br. J. Nutr. 13:78-84.
 16. Maiolino, R., Fioretti, A., Menna, L. F. and Meo, C. 1992. Research on the efficiency of probiotics in diets for broiler chickens. Nutrition Abstracts and Reviews Series B. 62:482.
 17. Mohan, B., Kadirvel, R., Natarajan, A. and Bhaskaran, M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. Br. Poult. Sci. 37:395-401.
 18. NRC. 1994. Nutrient requirement of poultry. National Research Council National Academy of Science Washington DC.
 19. Nurmi, E. and Rantala, M. 1973. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. Nature. 241:210-211.
 20. Prins, R. A. 1977. Biochemical activities of gut micro-organisms. In: Clarke, R. T. J. and Bauchop, T. eds. Microbial Ecology of the Gut. p73-183. London. Academic press.
 21. Sakata, T. 1987. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fiber gut microbes and luminal trophic factors. Br. J. Nutr. 58:95.
 22. SAS. 2002 SAS User's guide, Statistical Analysis System Inst. Inc Cary NC.
 23. Smith, M. W. 1985. Expression of digestive and absorptive function in differentiating enterocytes. Annu. Rev. Physiol. 47:247.
 24. Stavric S., Cleeson, T. M., Blanchfield, B. and Pivnick, H. 1987. Role of adhering microflora in competitive exclusion of *Salmonella* from young chicks. J. Food Protect. 50:928.
 25. Watkins, B. A., Miller, B. F. and Neil, D. H. 1982. *In vivo* effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotic chicks. Poult. Sci. 61:1298-1308.
 26. Watkins, B. A. and Kratzer, F. H. 1983. Effect of oral dosing of *Lactobacillus* strains on gut colonization and liver biotin in broiler chicks. Poult. Sci. 62:2088-2094.
 27. Yamaguchi, K., Isshiki, Y., Znou, Z. X. and Nakahiro, Y. 1990. Scanning and transmission electron microscopical observations of bacteria adhering to ileal epithelial cells in growing broiler and White Leghorn chickens. Br. Poult. Sci. 31:129-137.
 28. Yeo, J. and Kim, K. 1997 Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or Yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult. Sci. 76:381-385.
- (접수일자 : 2008. 4. 10. / 수정일자 : 2008. 10. 8. / 채택일자 : 2008. 10. 16.)