

방선균(*Nocardia* sp. CS682) 발효물의 급여가 육계의 생산성, 혈액성상, 면역글로불린 및 소장 내 미생물 함량에 미치는 영향

이아름¹ · 신동훈¹ · 김찬호¹ · 정병윤² · 유진철³ · 홍영호¹ · 백인기^{1,†}

¹중앙대학교 동물생명공학과, ²Department of Poultry Science, The University of Georgia, ³조선대학교 약학대학

Effect of Supplementary *Actinomycetes* (*Nocardia* sp. CS682) Ferment on the Performance, Blood Parameters, Immunoglobulin and Small Intestinal Microflora Contents in Broilers

Ah Reum Rhee¹, Dong Hun Shin¹, Chan Ho Kim¹, Byoung Yun Jung², Jin Chul Yoo³, Yong Ho Hong¹ and In Kee Paik^{1,†}

¹Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea

²Department of Poultry Science, University of Georgia, GA 30602, USA

³Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-717, Korea

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of dietary supplementation of CS682, a fermentation product of Actinomycetae *Nocardia* sp. CS682, and DCS682[®], a commercial product, on the performance, blood parameters, small intestinal microflora, and immunoglobulin contents in broilers. In Exp. 1, a total of 240 ROSS[®] broiler chickens of 1d old were assigned to six dietary treatments: Control, Antibiotics (6 ppm avilamycin), CS682-0.25 (CS682 0.25%), CS682-0.50, CS682-0.75 and CS682-1.00. There were significant ($p<0.05$) differences among treatments in feed conversion. The CS682-0.25 treatment was significantly ($p<0.05$) lower than Antibiotics and other CS682 treatments in 0~2 wk feed conversion. The CS682 treatments influenced MCV (mean corpuscular volume) in blood. The cfu of *Escherichia coli* in small intestinal content was lowest in Antibiotics treatment followed by CS682 treatments and Control. In Exp. 2, a total of 1,000 ROSS[®] broiler chickens of 1 d old were assigned to five dietary treatments: Control, Antibiotics (6 ppm avilamycin), DCS682-0.05 (DCS682[®] 0.05%), DCS682-0.10 and DCS682-0.20. There were significant differences ($p<0.05$) among treatments in mortality. The DCS682-0.20 treatment was lower than DCS682-0.10 in 0~3 wk and lower than Control in 0~5 wk mortality. Antibiotics treatment was lowest in all microbial population in small intestinal content. The cfu of *E. coli* and *Salmonella typhimurium* of DCS682 treatments were higher than Antibiotics treatment but lower than the Control. The results of present broiler experiments indicated that supplementation of 0.20~0.25% CS682 and DCS682, improve feed conversion, mortality and control harmful intestinal microbes.

(Key words : *Nocardia* sp. CS682, broiler, small intestinal microflora, feed efficiency, mortality)

서 론

Moore et al.(1946)이 가금 사료에서의 항생제 첨가 효과를 처음으로 보고한 이래로, 많은 연구가들(Damron et al., 1991; Jeffries et al., 1997; Krudger et al., 1983; Boyd, 1994)이 성장 촉진용 항생제 사용에 대한 연구가 시행되었다. 더욱이 축산업이 집단 사육 형태로 규모화 되어감에 따라 질병 원인체에 노출될 가능성과 질병 전파의 위험성이 더욱 높아지게 되었으며, 이에 따라 질병을 예방 치료하기 위한 약제의 집중 사용이 증가하였다(Anadon and Martinez-Larranaga, 1999).

그러나, 인간에게 치명적인 항생제 내성을 가진 MRSA(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)와 VRE(vancomycin resistant *Enterococci*)의 출현으로 가축 성장 촉진용 항생제의 사용에 제한을 받게 되었다(Murray, 1995). 방선균(*Actinomycetes*)은 항균 물질 생성과 생물학적 활동성이 풍부한 것으로 잘 알려져 있으며, 산업적으로도 상당히 중요하다. *Actinomycetes*는 자연적, 인공적인 모든 환경에서 널리 퍼져 있으며, 유기물을 분해하는 중요한 역할을 하기도 한다(Yoo et al., 2002). 최근, 특이한 macrolide계 항생제로서 anti-MRSA 능력을 지닌 nargenicin을 1977년에 *Actinomycetes*목(目) *Nocardia argen-*

[†] To whom correspondence should be addressed : ikpaik@cau.ac.kr

*tinensis*에서 분리하였다(Celmer et al., 1980). Sohng et al.(2008)은 한국 토양에서 *Actinomycetes* 계통의 *Nocardia* sp. CS682에서 nargenicine을 분리, 정제하였고, 제조 과정 중에 생성되는 발효 물질(CS682)을 실험용 쥐에 시험하여 독성을 검사하였는데 어떠한 독성도 나타내지 않았으며, 대조구에 비하여 CS682를 투여한 실험구에서의 증체량이 증가하는 경향을 보였다(Lee et al., 2007; Shin et al., 2009).

따라서 본 연구에서는 육계에서의 CS682(C대학교 제조)와 DCS682[®](Daehan New Pharm Co., Ltd., Korea)의 수준별 급여가 생산성, 혈액 성장, 면역글로불린 그리고 소장 내 미생물에 미치는 영향을 구명하기 위해 시험 1과 2로 나누어 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험 사료

시험1과 2에서 대조구로 사용한 시험 사료는 NRC(1994)에 준하여 CP 20.0%, ME 3,110 kcal/kg의 시판 사료로 그 배합비와 영양소 함량은 Table 1에서 보는 바와 같다. 시험에 사용한 항생제는 Avilamycin[®](Elanco Co., Ltd., Avilamycin 3% 제제)로 항생제 처리구에 0.02%를 사용하여 avilamycin 6 ppm을 처리하였다. *Nocardia* sp. CS682는 *Actinomycetes* 목의 *Nocardia* sp. CS682의 발효물로 Sohng et al.(2008)과 Cho et al.(2009)의 방법에 의해 제조되었다. Strain CS682는 OSYM agar(2% oat meal, 1% dried yeast, 1% mannitol, 1% soybean meal, 2% agar) 배지에 토양 샘플을 접종한 후 30℃에서 7일간 배양하여 분리하였다. 분리된 *Nocardia* sp. CS682를 jar fermentor(Ko Biotech Co. Ltd., Korea)와 배지(1% maltose, 0.3% oat meal, 0.3% yeast extract, 0.3% soybean meal, 0.1% CaCO₃; pH 7.0)에서 5일간 배양한 다음 culture broth(5 L)를 8,000×g로 20 min 간 원심 분리한 후 mycelia cake는 제거하고 동결 건조하였다.

시험 1에서는 건조물을 60배 희석한 CS682(조선대학교 제조)를 사용하여 실시하고, 시험 2에서는 CS682를 토대로 만들어진 50배 희석한 DCS682[®](Daehan New Pharm Co., Ltd., Korea)를 사용하였다.

2. 실험 설계 및 사양 관리

갯 부화한 육계(Ross[®])를 암·수 감별 후 시험 1에서는 240수를 공시하였으며, 시험 2에서는 1,000수를 공시하였다. 시험 1에서는 반복당 10수씩(암, 수 동수)을 24개의 cage(가로: 750 mm, 세로: 750 mm)에 6처리 4반복으로 완전임의 배치하였으며, 시험 2에서는 반복당 50수씩(암, 수 동수)을 20개

의 floor pen(가로: 2,000 mm, 세로: 2,400 mm)에 5처리 4반복으로 완전 임의의 배치하였다. 물과 사료는 자유 채식케 하였고, 온도 관리는 시험 개시 시 육추기 온도를 33±1℃로 맞추어 준 뒤 한 주마다 2℃씩 감소시켜 시험 종료 시까지 24℃를 유지하였다. 사양 기간은 각각 4주와 5주였다. 시험 1에서는

Table 1. Composition of basal broiler diet in Experiment 1 and 2

Ingredients	Amount (%)
Corn US No.3	23.40
Wheat	38.87
Soybean meal-44%	27.10
Rape seed meal	3.00
Animal fat	4.50
Lysine 78%	0.26
Threonine 10%	0.25
NSP enzyme	0.05
Phytase	0.05
Sodium hydrogen carbonate	0.20
Dicalcium phosphate	1.30
Salt	0.26
Limestone	0.61
Broiler premix ¹	0.10
Madurmycine ²	0.05
Total	100.00
Calculated composition	
ME (kcal/kg)	3,110.00
Crude protein (%)	20.00
Crude fat (%)	5.20
Calcium (%)	0.90
Available phosphorus	0.40
Lysine (%)	1.13
Methionine + cystine (%)	0.85

¹Contains per kg diet: vitamin A, 9,000 IU; vitamin D₃, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K, 1.2 mg; thiamin, 1.2 mg; riboflavin, 4 mg; niacin, 20 mg; pyridoxin, 8 mg; choline, 1,200 mg; biotin, 0.5 mg; folic acid, 0.5 mg; Mg, 0.15 mg; Cu, 10 mg; Mn, 105 mg; Se, 0.25 mg; Zn, 75 mg; I, 1 mg; Fe, 50 mg; Co, 0.1 mg.

²Coccidiostat: Yuhan Co., Ltd.

Control, Antibiotics(avilamycine 6 ppm), CS682-0.25(CS682 0.25%), CS682-0.5(CS682 0.50%), CS682-0.75(CS682 0.75%) 그리고 CS682-1.00(CS682 1.00%)이었고, 시험 2에서는 Control, Antibiotics(avilamycine 6 ppm), DCS682-0.05(DCS682[®] 0.05%), DCS 682-0.1(DCS682[®] 0.1%) 그리고 DCS682-0.2(DCS 682[®] 0.2%)였다.

3. 조사 항목 및 분석 방법

1) 생산성(증체량, 사료 섭취량, 사료 요구율, 폐사율, 생산 지수)

시험 1에서의 증체량은 2주령과 4주령(시험 종료)에 각각 측정하였고, 시험 2에서의 증체량은 3주령과 5주령(시험 종료)에 각각 측정하였다. 사료 섭취량은 사료 급여량에서 잔량을 제하여 산출 하였으며, 사료 요구율 (FCR)은 사료 섭취량을 증체량으로 나누어 산출하였다. 폐사율은 폐사수수를 생존 수수로 나누어 산출하였다. Production Efficiency Factor (PEF)는 ROSS[®] manual(2009)의 방법으로 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

$$PEF = \frac{\text{Live availability} \times \text{Live Weight in kg}}{\text{Age in days} \times \text{FCR}} \times 100$$

4. 혈액성상 및 혈장 IgG, IgA 분석

각 시험의 사양 종료 직후 시험 1은 처리당 8수씩(총 48수), 시험 2는 처리당 10수씩(총 40수) 선발하여 중앙대학교 동물시험 윤리위원회 규정에 의거하여 경추탈골시킨 후 심장에서 혈액 5 mL씩 EDTA가 처리된 Vacutainer[™]와 Vacutainer Needle & Holder[™](Becton & Dickinson, U.S.A)를 이용하여 채혈한 후 24시간 안에 혈액분석기(HEMAVET[®] HV950FS, Drew Scientific, Inc., U.S.A)로 leukocytes와 erythrocytes를 분석하였고, 25,000×g로 20 min 원심분리한 후 혈장을 따로 분리하여 IgG, IgA 분석 전까지 냉동(-50℃) 보관하였다. 혈장 내 IgG와 IgA의 농도는 Mancini et al.(1965)에 의해 개발된 RID test(single radial immune-diffusion test)법에 준하여 Microplate Reader (Molecular Device, #Model-Spectramax190, U.S.A)에서 흡광도 450 nm로 측정하였다. IgG standard reference 값은 Chicken IgG(ELISA Chicken IgG Core Kit, Koma Biotech. Co., Ltd. Korea)를 1,000, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 ng/mL로 희석하여 작성하였다. IgA standard reference값도 Chicken IgA를 1,000, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 ng/mL로 희석하여 작성하였다. 혈장 분석시 마다 각각의 회귀 방정식을 사용하여 값을 계산하였다.

5. 소장 내 미생물 균총

각 시험에서 혈액을 채취한 다음 개체들의 회맹장(ileo-cecal junction)의 상부 10 cm씩 일정하게 절개하여(Tim et al., 2006) 그 안에 있는 모든 내용물을 멸균된 용기에 담아 분석 전까지 -50℃에서 보관하였으며, Genomic DNA는 Ultra Clean[™] Fecal DNA Kit(MO BIO Laboratories Inc., USA)를 이용하여 분리하였다. 간단히 요약하자면, bead tube에 sample 0.25 g을 넣고, bead solution을 넣은 후 S1부터 S5까지의 시약을 단계별로 첨가한 후 spin filter로 여과하여 50 μL의 DNA를 추출하였고, 얻어진 DNA extracts를 정량 분석에 사용하였다. 측정된 미생물들은 통상 유해 미생물로 분류되는 *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*과 유익 미생물로 분류되는 *Lactobacillus* spp., universal bacteria이었고, 사용된 primer는 Table 2에 요약하였다. 분석을 위해 SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, USA) 2M 10 μL, forward primer 10 pmole 1 μL, reverse primer 10 pmole 1 μL, PCR-grade water(TE buffer, pH 8.0) 7 μL, DNA extracts 1 μL 등 총 20 μL를 microwell plate에 첨가한 후 Real-time PCR system(ABI PRISM 7500, Applied Biosystems, USA)를 이용하여 정량 분석하였다. Standard curve는 *E. coli*(ATCC25922)의 16s rRNA gene을 이용하여 1, 10, 100, 1,000 pg/μL 농도에서 작성한 후 비교하였다(Rutledge and Cote, 2003).

6. 통계분석

각 시험에서 얻어진 자료의 통계 처리를 위하여 반복당 평균 값을 SAS[®](1996) GLM(General Linear Model) Procedure를 이용하여 자료를 분석하였으며, *F*-test 결과 유의성(*P*<0.05)이 있을 경우 처리구 평균간의 차이를 Duncan's multiple range test로 검정하였다(Steel and Torrie, 1980).

결과 및 고찰

1. 생산성(증체율, 사료 섭취량, 사료 요구율, 폐사율, 생산지수)

시험 1과 2의 처리에 따른 육계의 생산성은 각각 Table 3과 4에 요약하였다. 시험 1의 생산성의 결과를 보면 0~5주 전기간 증체량, 사료 섭취량, 사료 요구율, 폐사율, 생산지수는 처리간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 0~2주에서 사료 요구율에서는 CS682-0.25구가 항생제구와 CS682의 다른 처리구들에 비해 유의적으로(*P*<0.05) 감소하였고, 대조구에 비해서는 유의적인 차이는 없었으나 낮은 경향이 있었다.

시험 2에서의 생산성 결과를 보면 0~5주 전기간 증체량,

사료 섭취량, 사료 요구율, 생산지수는 처리간의 유의한 차이가 없었다. 그러나 0~3주 폐사율에서는 DCS682-0.20구가 DCS682-0.10구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 낮았으나, 타 처

리와는 유의적인 차이가 없었다. 전기간 0~5주에서 폐사율에서는 DCS682-0.20구가 대조구에 비해 유의적으로($P<0.05$) 낮았으나, 항생제구와 다른 DCS682 첨가구 사이에서는 유

Table 2. Primer sequence used for real-time PCR in Experiment 1 and 2

Primer	F/R	Sequence(5'-3')	Reference
Universal bacteria	Forward	5'-ACTCC TACGG GAGGC AGCAG-3'	Jennifer et al. (2007)
	Reverse	5'-CGTAT TACCG CGGCT GCTGC-3'	
<i>Clostridium perfringens</i>	Forward	5'-ATGCA AGTCG AGCGA(G/T)G -3'	Songjinda et al. (2007)
	Reverse	5'-TATGC GGTAT TAATC T(C/T)CCTT T-3'	
<i>Escherichia coli</i>	Forward	5'-GTAA TACCTTTGCT CATTG A-3'	Malinen et al. (2003)
	Reverse	5'-ACCAG GGTAT CTAAT CCTGTT-3'	
<i>Lactobacilli</i> spp.	Forward	5'-CACCG CTACA CATGG AG-3'	Heilig et al. (2002)
	Reverse	5'-AGCAG TAGGC AATCT TCCA-3'	
<i>Salmonella typhimurium</i>	Forward	5'-TTATT AGGAT CGCGC CAGGC-3'	Widjoatmodjo et al. (1991)
	Reverse	5'-GGACC ACGAT CACCG ATCA-3'	

Table 3. Performance of broilers fed for four week in Experiment 1

Parameter	Weeks	Treatment ¹						SEM (n=4)
		Control	Antibiotics	CS682-0.25	CS682-0.50	CS682-0.75	CS682-1.00	
Weight gain (g/bird)	0~2	384.90	375.13	405.15	384.44	376.38	381.91	11.349
	3~4	634.90	705.76	708.02	676.32	677.38	731.66	30.309
	0~4	1019.80	1080.89	1113.17	1060.76	1053.76	1113.58	32.642
Feed intake (g/bird)	0~2	626.25	647.50	631.75	655.88	653.38	647.38	16.615
	3~4	917.13	968.63	979.25	962.88	924.38	952.88	33.042
	0~4	1543.38	1616.13	1611.00	1618.75	1577.75	1600.25	42.392
Feed conversion	0~2	1.63 ^{ab}	1.73 ^a	1.56 ^b	1.71 ^a	1.74 ^a	1.70 ^a	0.036
	3~4	1.45	1.38	1.39	1.43	1.37	1.30	0.047
	0~4	1.51	1.50	1.45	1.53	1.50	1.44	0.033
Mortality (%)	0~2	0.00	2.50	0.00	2.50	2.50	0.00	1.767
	3~4	2.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.041
	0~4	2.50	2.50	0.00	2.50	2.50	0.00	2.041
PEF ²	0~4	239.55	257.27	275.01	247.31	249.74	277.16	12.056

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.25; CS682 0.25%, CS682-0.50; CS682 0.50%, CS682-0.75; CS682 0.75%, CS682-1.00; CS682 1.00%.

²Production efficiency factor (PEF)=[(Liveability × live weight in kg) / (Age in days × Feed conversion ratio)] × 100.

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

Table 4. Performance of broilers fed for five week in Experiment 2

Parameter	Treatments ¹						SEM (n=4)
	Weeks	Control	Antibiotics	DCS682-0.05	DCS682-0.10	DCS682-0.20	
Weight gain (g/bird)	0~3	851.18	864.58	848.63	837.45	846.88	24.814
	4~5	855.72	972.11	907.49	917.27	909.45	38.332
	0~5	1706.90	1836.69	1756.12	1754.72	1756.33	40.195
Feed intake (g/bird)	0~3	1245.60	1238.99	1247.69	1231.76	1262.55	24.622
	4~5	1171.69	1235.86	1155.88	1171.69	1146.17	68.717
	0~5	2417.29	2475.85	2403.57	2403.45	2408.72	60.931
Feed conversion	0~3	1.46	1.43	1.47	1.47	1.49	0.029
	4~5	1.37	1.27	1.27	1.28	1.26	0.092
	0~5	1.42	1.35	1.37	1.37	1.37	0.046
Mortality (%)	0~3	1.90 ^{ab}	0.95 ^{ab}	1.43 ^{ab}	2.37 ^a	0.48 ^b	0.562
	4~5	0.95	0.95	0.48	0.00	0.00	0.407
	0~5	2.85 ^a	1.90 ^{ab}	1.90 ^{ab}	2.37 ^{ab}	0.48 ^b	0.715
PEF ²	0~5	309.88	330.93	338.86	320.18	326.80	18.478

¹Control; control diet, Antibiotics; Avilamycine 6ppm, DCS682-0.05; DCS 682[®] 0.05% , DCS682-0.1; DCS 682[®] 0.1%, DCS682-0.2; DCS 682[®] 0.2%.

²Production efficiency factor (PEF) = (Liveability × live weight in kg) / (Age in days × Feed conversion ratio) × 100.

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

의한 차이가 없었다.

Actinomycetes 계통의 *Streptomyces* 속에서 추출된 virginiamycin(Eric, 2006)을 육계에 첨가 시 사료 요구율이 감소된다는 보고(Tim et al., 2006)가 있었으며, 혼합 미생물제제 처리구(Safalaoh, 2006)와 항생제 급여구(Waldroup et al., 2003)에서 사료 요구율이 감소하였고, 생균제(Timmerman et al., 2006)와 항생제(Chapman and Johnson, 2002) 급여시 폐사율이 감소하였다. 김인호와 김춘수(1988) 및 Shin et al.(1990)은 육계에서 효모 배양물이나 생균제 급여 시 증체량과 사료 섭취량의 증가에 관계가 있는 것으로 보아, 이들이 사료의 풍미를 개선시킨 것으로 추론하였다. 본 육계 시험에서 항생제 첨가구와 CS682 및 DCS682 첨가구들에서 유의한 생산성 개선 효과는 유의하게 나타나지 않았으나, 증체량 및 PEF가 증가하는 경향을 보였다. 본 연구 결과가 기존의 타 연구들과는 다소 차이가 있는데, Jin et al.(1998)의 보고와 같이 첨가되는 균주의 종류와 첨가 방법의 차이에 의해 달라질 수 있고, 품종의 차이, 스트레스 요인, 환경적 요인, 생균제의 활력 및 급여 수준 등에 따라서 달라질 수 있다고 사료된다.

2. 혈액성상

시험 1과 2의 처리에 따른 혈액 성상 결과는 Table 5와 6에 요약하였다. 시험 1과 2 모두 leukocytes parameter들 즉 WBC (white blood cell), HE(heterophil), LY(lymphocyte), MO(monocyte), EO(eosinophil), SI(stress index; HE/LY) 그리고 BA (basophil)에서는 처리간에 유의한 차이가 없었다.

Erythrocytes의 경우, 시험 1에서 유의한 차이가 나타났다. CS682-1.0의 MCV(mean corpuscular volume)가 가장 적었는데 CS682-0.75보다는 유의적으로($P < 0.05$) 낮았으나, 다른 처리구들과는 유의한 차이가 없었다. 기타 erythrocytes parameter들 즉 RBC(red cell blood), Hb(hemoglobin), HCT(hematocrit), MCH(mean corpuscular hemoglobin) 그리고 MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentration)는 처리간에 유의한 차이가 없었다.

가금에서 항생제 첨가 시험에 따른 혈액 분석 자료는 희소한 편이다. 본 시험에서 나타난 MCV에 대한 사육환경에 따른 유의한 차이는 추후 심도있게 검토되어야 할 과제이다.

Melvin(1984)이 보고한 닭의 leukocytes와 erythrocytes의 정

상 범위 수치는 WBC; 12~30(K/ μ L), HE; 3~6(K/ μ L), LY; 7~15(K/ μ L), MO; 0.2~2.0(K/ μ L), EO; 0.0~1.0(K/ μ L), BA; 0.0~0.3(K/ μ L), RBC; 2.5~3.5(M/ μ L), Hb; 7.0~13.0(g/dL), HCT; 22.0~35.0(%), MCV; 90~140(fL), MCH; 25~37(pg), MCHC; 21~39(g/dL)이다. 혈액 내 leukocytes와 erythrocytes의 수치는 신체상 이상이나 환경적 스트레스 요인이 있을 경우 정상 범위에서 벗어난다. 본 시험 1과 2에서 조사한 혈액 성분들은 대체적으로 정상 수치 내에 들어가기는 하나, 여러 가지 영양 및 사양 조건이 육계의 혈액 성상에 대한 영향을 규명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

시험 1과 2에서의 plasma IgG, IgA에 대한 분석 결과는 Table 5, 6에 각각 요약하였다. 본 시험에서는 혈장의 IgG와 IgA는 처리에 따른 유의한 차이가 없었다. IgG는 CS682-0.75이상의 첨가 시 높아지는 경향이 있었다. 박대영 등(2002)와 김찬호 등(2010)은 육계에 효모 배양물과 혼합 생균제 첨가시 IgG 농도가 증가한다고 보고하였다. CSC682 첨가구가 유의한 차이는 없지만 대조구보다는 높은 경향을 보여 면역 기능에 긍정적인 영향을 주는 것으로 사료되지만, DCS 첨가구는 대조구보다 낮은 경향을 보여 CSC-682 첨가구와는 상반된 결과를 보여주었다. 이에 따른 결과는 추후 재 실험이 필

Table 5. The level of leukocytes and erythrocytes and IgG, IgA in blood of broilers fed experimental diets (Exp. 1)

Parameters	Treatments ¹						SEM (n=8)
	Control	Antibiotics	CS682-0.25	CS682-0.50	CS682-0.75	CS682-1.00	
Leukocytes²							
WBC (K/ μ L)	28.55	29.95	26.94	26.96	28.74	27.35	1.573
HE (K/ μ L)	8.61	9.74	8.36	8.36	9.14	8.60	0.875
LY (K/ μ L)	15.66	15.35	14.23	14.31	14.86	14.19	0.691
SI (HE/LY)	0.55	0.65	0.59	0.59	0.63	0.61	0.065
MO (K/ μ L)	3.01	3.08	2.68	2.80	3.04	2.89	0.154
EO (K/ μ L)	1.00	1.36	1.24	1.41	1.30	1.30	0.197
BA (K/ μ L)	0.30	0.45	0.45	0.53	0.44	0.44	0.094
Erythrocytes³							
RBC (M/ μ L)	2.58	2.43	2.51	2.49	2.43	2.43	0.070
Hb (g/dL)	7.63	7.13	7.40	7.30	7.30	7.23	0.266
HCT (%)	26.81	25.14	25.95	25.59	25.93	24.60	0.760
MCV (fL)	105.20 ^{ab}	104.13 ^{ab}	103.81 ^{ab}	103.29 ^b	106.95 ^a	101.94 ^b	1.061
MCH (pg)	29.88	29.55	29.59	29.48	30.14	29.99	0.736
MCHC (g/dL)	28.38	28.38	28.49	28.54	28.18	29.41	0.592
Immunoglobulins							
IgG (mg/mL)	4.76	4.98	4.89	4.70	5.12	5.36	0.577
IgA (mg/mL)	8.84	9.33	9.58	8.74	9.12	8.69	0.537

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.25; CS682 0.25%, CS682-0.50; CS682 0.50%, CS682-0.75; CS682 0.75%, CS682-1.00; CS682 1.00%.

²Leucocytes: WBC; White blood cell, HE; Heterophil, LY; Lymphocyte, MO; Monocyte, EO; Eosinophil, SI; Stress indicator, BA; Basophil.

³Erythrocytes: RBC; Red blood cell, Hb; hemoglobin, HCT; Hematocrit, MCV; Mean corpuscular volume, MCH; Mean corpuscular hemoglobin, MCHC; Mean corpuscular hemoglobin concentration.

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

Table 6. The level of leukocytes and erythrocytes and IgG, IgA in blood of broilers fed experimental diets (Exp. 2)

Parameters	Treatments ¹					SEM (n=8)
	Control	Antibiotics	DCS682-0.05	DCS682-0.10	DCS682-0.20	
Leukocytes²						
WBC (K/ μ L)	32.25	31.38	33.54	33.07	33.35	1.449
HE (K/ μ L)	10.85	10.08	11.03	11.06	11.03	0.735
LY (K/ μ L)	15.90	16.03	16.89	16.23	16.62	0.576
SI (NE/LY)	0.69	0.63	0.66	0.68	0.66	0.041
MO (K/ μ L)	3.21	3.28	3.45	3.36	3.46	0.151
EO (K/ μ L)	1.69	1.57	1.63	1.75	1.76	0.094
BA (K/ μ L)	0.61	0.56	0.60	0.68	0.67	0.025
Erythrocytes³						
RBC (M/ μ L)	2.81	2.78	2.91	2.94	2.92	0.116
Hb (g/dL)	8.90	8.84	9.01	8.80	8.93	0.321
HCT (%)	27.74	27.51	29.04	28.59	29.34	1.139
MCV (fL)	98.93	99.08	100.01	97.31	100.45	1.163
MCH (pg)	31.74	31.81	31.21	30.19	30.58	0.718
MCHC (g/dL)	32.08	32.09	31.20	31.06	30.46	0.667
Immunoglobulins						
IgG (mg/mL)	4.91	4.42	4.21	4.85	4.68	0.461
IgA (mg/mL)	7.05	6.99	7.20	6.29	7.34	0.921

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6ppm, CS682-0.25; CS682 0.25%, CS682-0.50; CS682 0.50%, CS682-0.75; CS682 0.75%, CS682-1.00%; CS682 1.00%.

²Leucocytes: WBC; White blood cell, HE; Heterophil, LY; Lymphocyte, SI; Stress indicator, MO; Monocyte, EO; Eosinophil, BA; Basophil.

³Erythrocytes: RBC; Red blood cell, Hb; hemoglobin, HCT; Hematocrit, MCV; Mean corpuscular volume, MCH; Mean corpuscular hemoglobin, MCHC; Mean corpuscular hemoglobin concentration.

요하다고 사료된다.

3. 소장 내 미생물 균총

시험 1과 2의 처리에 따른 소장 내 미생물 함량은 Fig. 1에 요약하였다. 시험 1의 경우 소장 내용물 중 *E. coli* 수는 유의적으로($P<0.05$) 차이가 있었는데, 대조구에서 가장 높았고, 다음으로 CS682-0.25와 0.50 처리구들, 그 다음으로 CS682-0.75와 1.00구들이었으며, 항생제구가 가장 낮았다. 기타 universal bacteria, *Lactobacillus*, *C. perfringens*, 그리고 *Salmonella typhimurium*의 수는 처리간에 유의한 차이가 없었다. 시험 2의 경우 universal bacteria와 *Lactobacillus* 수는 항생제구가 다른 처리구들보다 유의적($P<0.05$)으로 낮았으며, 다른 처리

구들 간에는 유의한 차이가 없었다. *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*의 경우 처리간에 유의적인($P<0.05$) 차이가 있었는데 대조구가 가장 높았고 다음으로 DCS682 처리구들이었으며, 항생제구가 가장 낮았다. *C. perfringens*는 시험 1과 마찬가지로 처리간에 유의한 차이는 없었다.

John(1961)의 항생제 특성에 관한 실험에서도 대조구의 *E. coli*가 높은 것을 볼 수 있었으며, Xu et al.(2003)이 수평아리의 소장 내 미생물 균총에 관해 실시한 연구 결과를 보면 prebiotics 첨가구에서 *Lactobacillus*는 증가하고 *E. coli*가 감소하였다.

본 실험에서 *C. perfringens*는 유의한 차이는 없었으나, 대조구에 비해 모든 처리구가 감소하는 경향을 보였다. 본 실험

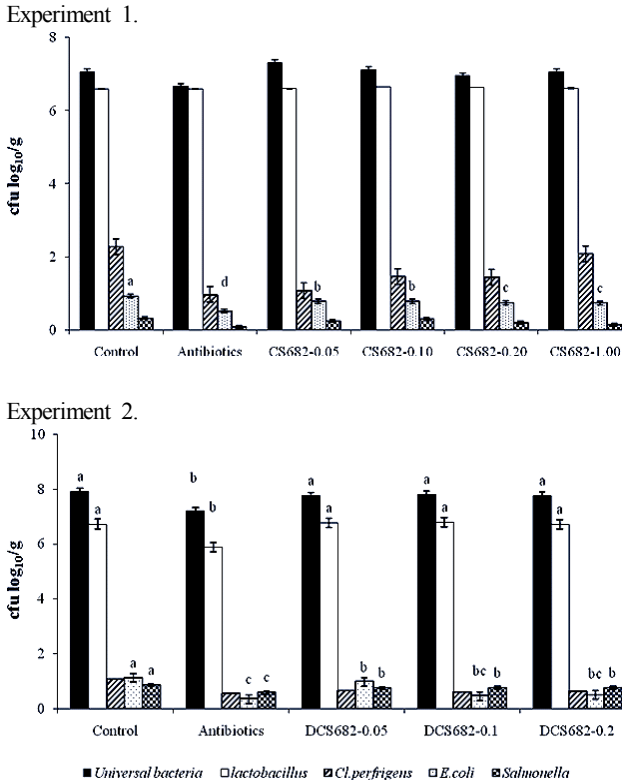


Fig. 1. Microflora in small intestinal content of broilers in Experiment 1 and 2.

¹Exp. 1: Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.25; CS682 0.25%, CS682-0.50; CS682 0.50%, CS682-0.75; CS682 0.75%, CS682-1.00; CS682 1.0 %

Exp. 2: Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, DCS682-0.05; DCS682[®] 0.05% , DCS682-0.1; DCS682[®] 0.1%, DCS682-0.2; DCS682[®] 0.2%

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

험의 결과를 보면 항생제 처리구는 실험에서 조사한 모든 장내 미생물을 감소시켰다. CS682는 유해 미생물로 분류되는 *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*는 감소시켰으나 universal bacteria와 *Lactobacillus*는 대조구와 차이가 없었다. 결론적으로 본 시험의 연구 결과는 CS682-0.25 또는 DCS682-0.20을 육계 사료에 첨가 시 사료 요구율을 개선하는 경향이 있었고, 폐사율을 감소시키며 장내 유해 미생물을 억제하는 효과를 나타내었다.

적 요

이 실험은 방선균 목(目) 노카르디아 중 CS682 균주의 발효물 CS682와 이를 바탕으로 한 제품 DCS682[®]를 육계에

급여 시 생산성, 혈액 성분, 소장 내 미생물, 면역성에 관한 효과를 알아보기 위해 실시하였다. 시험 1은 갖 부화한 총 240 수의 육계(ROSS[®])를 공시하였으며, 처리는 대조구, 항생제구, CS682-0.25(CS682 0.25%), CS682-0.50, CS682-0.75, CS682-1.00 등 6처리였다. 각 처리구 간의 사료 요구율에 유의한($p < 0.05$) 차이가 있었다. CS682-0.25 처리구는 항생제구와 다른 CS682 처리구들에 비해 0~2주 동안 사료 요구율이 유의적으로 감소했으나 대조구와는 차이가 없었다. 혈액성상에서는 CS682 처리구들이 MCV(mean corporal volume)에 유의한 영향을 미쳤다. 소장 내용물 중 *E. coli* 수는 항생제구가 가장 낮았고 다음으로 CS682구들 그리고 대조구였다. 시험 2는 갖 부화한 총 1,000수의 육계(ROSS[®])를 공시하였으며, 처리는 대조구, 항생제구, DCS682-0.05(DCS682[®]-0.05%), DCS682-0.1, DCS682-0.2 등 5처리였다. DCS682-0.2처리구는 DCS682-0.1 처리구에 비해 0~2주 폐사율이 유의적($P < 0.05$)으로 감소하였고, 대조구에 비해 0~5주 폐사율이 유의적($P < 0.05$)으로 감소하였다. 항생제구는 소장내 universal bacteria, *Lactobacillus*, *Salmonella typhimurium* 그리고 *E. coli* 수는 다른 처리구들에 비해 유의적으로 ($P < 0.05$) 감소하였으며 DCS682 처리구들은 *E. coli*와 *S. Typhimurium*수에서 항생제 처리구보다는 높았으나 대조구보다는 낮았다.

결론적으로 본 시험의 연구 결과는 CS682-0.25 또는 DCS682-0.20을 육계 사료에 첨가 시 사료 요구율을 개선하는 경향이 있었고, 폐사율을 감소시키며 장내 유해 미생물을 억제하는 효과를 나타내었다.

(색인어: *Nocardia* sp. CS682, 육계, 소장내 미생물, 사료 요구율, 폐사율)

사 사

본 연구는 조선대학교 약학대학에서 실시한 농림수산식품부 기술개발 과제(가축사료용 항생제 대체물질 산업화 기술 개발, 2008)의 제 2협동과제(1, 2차 년도)로 실시하였습니다.

인용문헌

Anadon A, Martnez-Larranaga MR 1999 Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livestock Production Sci* 59:183-198.
 Boyd LH 1994 Regulation of drugs and chemicals used by the poultry industry: Good manufacturing practices. *J Poultry Sci* 73(9):1419-1422.

- Celmer WD, Chmurny GN, Moppet CE, Ware RS, Watts PC, Whipple EB 1980 Structure of natural antibiotic CP-47,444. *J Am Chem Soc* 102(12):4203-4209.
- Chapman HD, Johnson ZB 2002 Use of antibiotics and roxarsone in broiler chickens in the USA: Analysis for the Years 1995 to 2000. *Poultry Sci* 81(3):356-364.
- Cho SS, Sohng JK, Lee HJ, Park SJ, Simkhada JR, Yoo JC 2009 Quantitative analysis of nargenicin in *Nocardia* sp. CS682 culture by high performance liquid chromatography. *Arch Pharm Res* 32(3):335-340.
- Damron BL, Wilson HR, Fell RV 1991 Growth of performance of broiler breeders fed bacitracin methylene disalicylate and zinc bacitracin. *Poultry Sci* 70:1487-1492.
- Eric C 2006 Antibiotic production by *Actinomycetes*: The Janus faces of regulation. *J Ind Microbiol Biotechnol* 33(7):500-506.
- Heilig HGJ, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans AD, Willem DV 2002 Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol* 68(1):114-123.
- Jeffries L, Coleman K, Bunyan J 1997 Antimicrobial substances and chick growth promotion: Comparative studies on selected compounds *in vitro* and *in vivo*. *Br Poultry Sci* 18:295-308.
- Jennifer AU, Shiao YW, David FU, Ellender RD 2007 *Methanobrevibacter ruminantium* as an indicator of domesticated-ruminant fecal pollution in surface waters. *Applied and Environmental Microbiology* 73(21):7118-7121.
- Jin LS, Ho YW, Avdullah N, Ali NA, Jalaludin S 1998 Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acid in broilers. *Animal Feed Sci Tech* 70:197-209.
- John MS 1961 Antibiotic properties of acrylic acid, a factor in the gastrointestinal antibiosis of polar marine animals. *J Bacteriol* Sieburth 82(1):72-79.
- Krudger WF, Bradley JW, Creger CR 1983 Effect of feeding bacitracin zinc on reproduction in broiler breeders. *Poultry Sci* 62:1450-1451.
- Lee JC, Ahn TH, Kang SS, Moon CJ, Bae CS, Kim SH, Yoo JC, Kim JC 2007 Single oral dose toxicity evaluation of CS682, a fermentation production of Korean soil bacteria, in rats. *Lab Anim Res* 23(4):401-404.
- Malinen E, Kassinen A, Rinttila T, Palva A 2003 Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiol* 149:269-277.
- Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF 1965 Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *J Immunol* 2:235-234.
- Melvin JS 1984 Physiological properties and cellular and chemical constituents of blood. *Ducks' Physiological of Domestic Animals*. 10th Ed.
- Moore PR, Evenson A, Luckey TD, McCoy E, Elvehjem CA, Hart B 1946 Use of sulfasuxidine, streptohricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J Biol Chem* 165:437-441.
- Murray B 1995 What can we do about vancomycin-resistant enterococci? *Clin Infect Dis* 20:1134-1136.
- NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. National Research Council National Academy of Science Washington, D.C.
- ROSS[®] broiler manual Aviagen 2009 pp.101.
- Rutledge RG, Cote C 2003 Mathematics of quantitative kinetic PCR and the application of standard curves. *Nucleic Acids Res* 31(16):1-6.
- Safalaoh ACL 2006 Body weight gain, dressing percentage, abdominal fat and serum cholesterol of broilers supplemented with a microbial preparation. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*. 6(1):1-10.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT[®] User's Guide Release 6.12 Edition SAS Institute Inc Cary Nc USA.
- Shin HT, Bae ID, Chung KW, Kim YK, Shon JH, Lee SK 1990 Evaluation of Live Yeast Culture as Source of Probiotics for Broiler. 5th AAAP 3:1.
- Shin IS, Lee JC, Park NH, Kang SS, Moon CJ, Kim SH, Shin DH, Yoo JC, Kim JC 2009 Subacute toxicity study of CS682, a fermentation product of Korean soil bacteria, in rats. *Lab Ani Res* 25(1):7-13.
- Sohng JK, Yamaguchi T, Seong CN, Baik KS, Park SK, Lee HJ, Jang SY, Simkhada JR, Yoo JC 2008 Production, isolation and biological activity of nargenicin from *Nocardia* sp. CS682. *Arch Pharm Res* 31(10):1339-1345.
- Songjinda P, Nakayama J, Tateyama A, Tanaka S, Tsubouchi M, Kiyohara C, Shirakawa T, Sonomoto K 2007 Differences

- in developing intestinal microbiota between allergic and non-allergic infant: a pilot study in Japan. *Biosci Biotechnol Biochem* 71(9):2238-2242.
- Steel RGD, Torrie JH 1980 Principles and Procedures of Statistics 2nd ed: A Biometrical Approach. McGraw-Hill Publishing Co., NY.
- Tim JD, Janet EH, Sean MH, Andrew GVK 2006 Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology* Apr 72(4):2815-2823.
- Timmerman HM, Veldman A, Van den Elsen E, Rombouts FM, Beynen AC 2006 mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Sci* 85(8):1383-1388.
- Waldroup PW, Edger O, Oviedo-Rondon, Fritts CA 2003 Comparison of Bio-MOS and antibiotic feeding programs in broiler diets containing copper sulfate. *International Journal of Poultry Sci* 2(1):28-31.
- Widjoatmodjo MN, Fluit AC, Torensma R, Kellerand BHI, Verhoef J 1991 Evaluation of magnetic immuno PCR assay for rapid detection of Salmonella. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10(11):935-938.
- Xu ZR, Hu CH, Xia IMS, Zhan XA, Wang MQ 2003 Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Sci* 82(6):1030-1036.
- Yoo JC, Han JM, Nam SK, Baik KS, Jo JS, Seong CN 2002 Characterization of a streptomycete isolate producing the potent cytotoxic substance, nonadecanoic acid. *The Journal of Microbiology* 40(2):178-181.
- 김인호 김춘수 1988 활성효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 급여가 브로일러의 육성성장에 미치는 영향. *한국가금학회지* 15(4):277-280.
- 김찬호 우경천 김근배 박용하 백인기 2010 혼합 또는 단일 생균제가 산란계와 육계의 생산성, 소장내 미생물 균총 및 면역체계에 미치는 영향. *한국가금학회지* 37(1):51-62.
- 박대영 남궁 환 백인기 2002 Yeast Culture(*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*)가 육계의 생산성, 소장내 미생물 균총 및 혈청 IgG 농도에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지* 44(3):289-296.

(접수: 2010. 12. 31, 수정: 2011. 2. 1, 채택: 2011. 2. 16)