

혼합 미생물제의 수준별 급여가 육계의 생산성 및 장내 미생물에 미치는 영향

류경선^{1†} · 신원집¹ · 박재홍¹ · 류명선¹ · 김종설¹ · 김상호² · 리홍룡³

¹전북대학교 생체안전성 연구소, 농업과학기술연구소, 동물자원과학과, ²축산기술연구소 가금과, ³연변대학교 농학원 동물과학과

Impact of Feeding Multiple Probiotics on Performance and Intestinal Microflora in Broiler Chicks

K. S. Ryu^{1†} · W. J. Shin¹ · J. H. Park¹ · M. S. Ryu¹ · J. S. Kim¹ · S. H. Kim² and H. L. Li³

¹Bio-Safety Research Institute, Institute of Agricultural Science and Technology,
Dept. of Animal Resources and Biotech., Chonbuk National University, Chonju Korea 561-756

²Division of Poultry, National Livestock Research Institute, Daejeon Korea 305-365

³Dept. of Animal Science, College of Agriculture, Yanbian University, China 133400

ABSTRACT : Feeding probiotics in broiler chicks still critical in several aspects. Thus, this study was conducted to investigate the impact of feeding multiple probiotics on performance, intestinal microflora, blood cholesterol and ND antibody vaccine titer in broiler chicks. Three hundred twenty one day old male broiler chicks(cobb × cobb) were divided into four levels of multiple probiotics(0, 0.1, 0.2, 0.3%) with five replicates for 35 days. Basal diets contained 21.5, 19.0% CP and 3,100 kcal/kg ME for starting and finishing period, respectively. Weight gain, feed intake and feed conversion were measured weekly. The number of *Salmonella*, *E. coli*, *Lactobacillus*, and yeast were examined from ileum and cecum at the end of experiment. ND vaccine titer, cholesterol were detected from sera.

Weight gain of birds fed probiotics were 669.33, 679.75 at the level of 0.1 and 0.2% supplemental groups for starting period. It was also improved in those treatments for finishing period and higher than control for total period. Feed conversion tended to be improved compared to that of control by the supplementation of probiotics for the first three weeks and seemed to show the similar tendency for the rest of two weeks. It was 1.611, 1.621 for the entire feeding period and improved compared with control.

Total salmonella, was not decreased in ileal digesta of birds fed the probiotics compared with control, whereas the number of yeast increased in 0.1% treatment. However, the number of *Lactobacillus* and yeast in cecum was higher than control. Even though the blood cholesterol seem to high in 0.1% probiotics treatment, the ratio of HDL to total cholesterol showed higher than control. ND vaccine titer of birds fed probiotics were significantly higher than control ($P < 0.05$).

These results 0.1% multiple probiotics would be possible to improve the performance of broiler chicks and ND vaccine titer. (Key words : probiotics, weight gain, feed conversion, vaccine titer, intestinal microflora)

서 론

가금에서 미생물제의 급여로 생산능력 개선(김상호 등, 2000; 박수영 등, 2000; Nahashon 등, 1993) 장내 유익균총의 증대(박수영 등, 2000; 김상호 등, 2001; 박재홍 등, 2003), 병원성 미생물의 억제(Baba 등, 1991; Dunham 등, 1993; Line 등, 1998), 혈장의 중성지방 및 콜레스테롤 감소(Santoso 등,

1995; Abdulrahim 등, 1996), 육계에 유산균 배양물을 6주간 급여로 ND 백신 항체가 증대(Zulkifli 등, 2000), *L. crispatus* 를 급여시에 장내에서 유산생성의 증가(Van der Wielen 등, 2002), 메추리에 사료내 효모균을 0.1% 급여시에 대조구에 비하여 약 40%의 증체가 개선(Parlat 등, 2001)등 미생물의 급여가 육계에서 미치는 영향에 관한 보고는 지속적으로 진행되어 왔다. 이러한 연구의 대부분은 단일균주의 수준별 급

[†] To whom correspondence should be addressed : seon@moak.chonbuk.ac.kr

여가 가금류의 생산에 미치는 영향에 관하여 보고되어 왔다.

그러나 가금에서 혼합 미생물의 급여가 능력개선 등에 미치는 영향에 관한 결과는 불분명하다(류경선 등, 2000) 그러므로 본 실험은 혼합 미생물제의 급여가 육계의 생산능력(증체, 사료섭취량, 사료요구율) 및 장내 미생물, ND 항체가 미치는 영향에 대한 구명을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

1. 사양실험

1일령 육계 코우브 수컷에 물과 사료는 무제한으로 급여하였으며, 전기 3주간에 기초사료는 조단백질 21.5%, ME 3,100 kcal/kg, 후기 2주간에는 조단백질 19%, ME 3,100과 kcal/kg 수준으로 급여하였다(Table 1). 처리구는 기초사료에 *L. acidophilus*, *B. subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* 등이 각각 10⁶/g보다 높은 수준이 함유된 혼합 미생물제를 0, 0.1, 0.2, 0.3% 수준으로 첨가하였으며 처리구당 5반복 반복당 16수씩으로 처리구당 80수 전체 320수를 평사에서 5주간 사양실험을 시행하였다.

2. 조사항목

처리구별 증체량, 사료섭취량, 사료요구율은 매주 측정하였으며, 실험 종료시에 혈액을 채취하여 혈장으로부터 ND 항체가 및 콜레스테롤을 측정하였고, 맹장과 회장의 소화물에서 효모균, 유산균, 살모넬라와 *E. coli* 수를 측정하였다(Table 2).

1) 장내 미생물

실험종료 후 각 처리구별로 10수씩 경추탈골법으로 희생시킨 후 회장, 맹장에서 내용물을 1g을 무균적으로 수거한 후 표 2에 나타난 조건에 따라서 멸균된 생리식염수(PBS) 9ml에 증량 대 부피로 10⁻¹부터 10⁻⁵까지 희석하였다. 희석액 중 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵에서 각각 0.1ml를 분주하여 *Lactobacillus* spp, yeast, *E. coli*의 수를 각각 측정하기 위하여 평판배지에 접종하였다. *Lactobacillus* spp, yeast, *E. coli*의 수를 측정하는 데는 각각 Rogosa agar(Difco), yeast morphology agar(Difco), MacConkey agar(Difco)를 이용하여 37°C에서 24시간(*Lactobacillus* spp.는 48시간)동안 호기상태로 배양한 후, 각각의 평판배지에서 colony의 수를 조사하였으며, 조사된 미생물의 수는 상용로그를 취하여 나타냈다.

Table 1. Basal diet composition

Ingredients	Starter	Finisher
	------(%)-----	
Corn	59.659	66.480
Soybean meal(44%)	27.713	24.754
Corn gluten	6.500	3.716
Soybean oil	2.636	2.000
TCP	1.749	1.235
Limestone	0.903	1.096
NaCl	0.380	0.341
Methionine	0.126	0.053
Lysine	0.134	0.125
Vitamin premix ¹	0.100	0.100
Mineral premix ²	0.100	0.100
Total	100.00	100.00
Calculated nutrients composition		
ME(Kcal/kg)	3,100	3,100
Crude protein(%)	21.50	19.00
Methionine(%)	0.500	0.380
Lysine(%)	1.100	1.000
Ca(%)	1.000	0.900
Available P(%)	0.450	0.350

¹Provided per kilogram of diet: vit. A, 5,500IU; vit. D₃, 1,100IU; vit. E, 11IU; vit. B₁₂ 0.0066mg; riboflavin, 4.4mg; niacin, 44mg; pantothenic acid, 11mg (Ca-pantothenate, 11.96mg); choline, 190.96mg (choline chloride 220mg); menadione, 1.1mg (menadione sodium bisulfite complex, 3.33mg); folic acid, 0.55mg; pyridoxine, 2.2mg(pyridoxine hydrochloride, 2.67mg); biotin, 0.11mg; thiamin, 2.2mg(thiamine mononitrate, 2.40mg); ethoxyquin, 125mg.

²Provided in mg per kilogram of diet; MnSO₄, 120; ZnSO₄, 100; FeSO₄, 60; CuSO₄, 10; Ca(IO₃)₂, 0.46; CaCO₃, min: 150 max: 180.

2) ND 항체가

ND 항체는 14일령에 1차 접종하고 28일령에 보강 접종 후 실험 종료시에 혈액을 채취하여 분리된 혈청으로부터 처리구별 항체는 Beard 등(1975)의 혈액 응집 억제반응(Heamagglutination Inhibition test; HI test)을 이용하여 구하였으며 모든 ND 항체 역가는 log₂ 값으로 나타내었다.

Table 2. Condition of medium and microbial culture

Microorganism	Medium	Culture condition
<i>Salmonella</i>	SS agar (Difco 0074-17)	37°C for 24hr, Anaerobically
<i>E. coli</i>	Macconkeyagar (Difco 0075-17-1)	37°C for 24hr, Anaerobically
Yeast	Yeast Morphology agar(Difco 0393-17)	37°C for 24hr, Anaerobically
<i>Lactobacillus</i> spp.	Rogosa agar (Difco 0480-17-0)	37°C for 48hr, Anaerobically

3) 혈중 콜레스테롤

Total cholesterol, HDL-cholesterol, Triglyceride의 측정은 효소 비색법을 이용하였고, cholesterol kit는 아산제약에서 구입하였다.

3. 통계분석

수집된 자료는 SAS package(1996)의 GLM procedure로 분산분석을 실시하고 Duncan's new multiple range test로 처리구간에 통계적인 차이를 분석하였다.

결과 및 고찰

혼합 미생물제의 급여가 성장능력에 미치는 영향은 Table 3에 나타냈다. 사육 전기 3주간에 증체량은 생균제 0.1과 0.2% 처리구에서 각각 669.33과 679.95g으로 대조구의 651.1g 비하여 높은 경향을 보였으며, 사육 후기 2주간에도 증체량은 동일한 처리구에서 각각 1091.21과 1099.28g으로 대조구의 1025.8g에 비하여 현저하게 높았다($P<0.05$). 전 사육기간에도 증체량은 생균제 0.1과 0.2% 처리구에서 1760.5, 1779.0g으로 대조구의 1680.9g에 비하여 현저하게 높았

다($P<0.05$). 이러한 결과는 *L. casei*의 첨가로 육계의 성장이 개선되었으며(Yeo와 Kim, 1997), 유산균을 사료에 10^4 /g 수준으로 급여시에 증체량이 개선되었고(박수영, 2000), 혼합 생균제의 급여로 성장능력이 개선되었다는 류경선 등(2000)의 보고와 일치하였다. 사료요구율은 미생물제 0.1과 0.2% 급여구에서 1.611과 1.621으로 대조구의 1.660에 비하여 개선되는 경향을 보였으며, 생균제 급여구는 대조구에 비하여 사료요구율이 개선되는 경향을 보였다는 Tortuero와 Fernandez (1995)의 보고와 일치하였다. ND 항체가는 미생물제 급여구에서 각각 7.60, 7.15, 7.10으로서 대조구의 6.0에 비하여 높게 나타났다. 본 실험에서 육계에서 미생물제의 급여로 ND 항체가는 증대되었으므로 면역적인 기능을 간접적으로 개선하는 역할을 할 것으로 사료된다. 이러한 결과는 유산균의 첨가·급여로 ND 항체가는 증대되었다는 Zulkifli 등(2000), 이홍룡 등(2001)의 보고와 일치하였으며, 바실러스균의 첨가·급여로 ND 항체가에 미치는 영향이 없었다는 이홍룡(2001)의 보고와는 상이하였다.

미생물제 급여구에서 회장 소화물과 맹장의 살모넬라의 수는 대조구의 5.000에 비하여 높은 경향을 보였지만 회장의 대장균 수는 생균제 급여구에서 대조구보다 낮은 경향을 보였다(Table 4). 유산균 수는 회장에서 생균제 급여구 0.1과 0.3% 급여구에서 각각 8.450과 8.490으로 대조구의 8.271에 비하여 높았지만 0.2% 급여구에서 낮았던 원인은 실험상의 오차로 사료된다. 효모균은 대조구의 6.000에 비하여 생균제 0.1% 급여구에서 7.767로 처리구중에서 제일 높게 나타났다. 이러한 결과는 생균제의 급여로 장내 대장균의 활성화가 억제되며, 유익균의 수를 증가시킨다는 이전의 보고(Baba 등, 1995; Fuller, 1989; 남궁환 등, 1986; 류경선과 박홍석, 1998)와 일치하였으며, 육계에 유산균의 급여로 사육초기에는 장내 유산균이 증가하였지만, 사육 후기에는 차이가 없었다는 김삼호 등(2000) 보고와는 다른 경향을 나타냈지만 한

Table 3. Impact of feeding probiotics on productivity of broiler chicks

Treatments (%)	Weight gain(g)			Feed intake(g)			Feed conversion			ND titer
	0~3wk	4~5wk	Total	0~3wk	4~5wk	Total	0~3wk	4~5wk	Total	
0	655.1 ^b	1025.8	1680.9 ^b	919.8	1870.3	2790.0	1.404	1.823	1.660	6.00 ^b
0.1	669.3 ^{ab}	1091.2	1760.5 ^a	913.0	1922.5	2835.5	1.364	1.762	1.611	7.60 ^a
0.2	679.8 ^a	1099.3	1779.0 ^a	929.1	1955.3	2884.6	1.367	1.779	1.621	7.15 ^a
0.3	657.5 ^b	1025.3	1682.8 ^b	905.0	1913.1	2818.1	1.376	1.866	1.675	7.10 ^a
Pooled SE	7.2	10.4	17.3	8.1	32.5	43.2	0.01	0.01	0.01	0.09

Table 4. Impact of feeding multiple probiotics on intestinal microflora in broiler chicks

Treatments (%)	Ileum				Cecum			
	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Lactobacillus</i>	Yeast	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Lactobacillus</i>	Yeast
	----- log 10 cfu/g -----							
0	5.000	6.588	8.271	6.000	6.522 ^c	6.943 ^b	7.925 ^{ab}	6.845 ^b
0.1	5.040	6.301	8.450	7.767	8.119 ^a	8.018 ^a	8.459 ^a	8.180 ^a
0.2	5.926	6.343	8.145	6.107	7.367 ^b	7.053 ^b	7.292 ^b	7.255 ^{ab}
0.3	4.799	5.699	8.490	6.206	7.378 ^b	7.302 ^b	8.307 ^a	7.363 ^{ab}
Pooled SE	0.181	0.274	0.071	0.280	0.092	0.090	0.094	0.084

인규 등(1984)이 육계사료에 *L. sporogenes*의 첨가로 대장의 *Lactobacilli*의 수가 증가하였다는 보고와는 일치하였다. 이러한 차이는 급여된 미생물의 종과 균수의 차이에 기인할 것으로 사료된다. 일반적으로 미생물의 보고로 알려진 맹장에서 살모넬라수는 미생물제 급여구에서 대조구에 비하여 높게 나타났으며, 회장에서와 동일한 경향을 보였다. 맹장에서 *E. coli*도 살모넬라와 비슷한 경향으로 생균제의 급여로 감소되지 않았다. 그러나 유산균 수는 생균제 0.1% 급여구에서 8.459로 모든 처리구중에서 가장 높게 나타났으며, 효모균수는 생균제 급여구에서 대조구의 6.845보다 현저하게 높았으며($P < 0.05$), 회장에서와 비슷한 경향을 보였다. 본 실험의 결과 육계사료에 미생물제의 급여로 회장과 맹장에서 살모넬라 수가 감소되지 않았으며, 대장균의 수는 각각의 부위에서 차이가 있었고, 효모균 수는 증대되었으며, 맹장에서 일관성은 없었지만 유산균과 효모균 수는 대조구보다 높게 나타났다.

육계사료에 생균제 0.1% 첨가로, 육계의 혈중 총콜레스테롤은 대조구보다 높은 경향을 나타냈지만 0.2와 0.3% 급여구에서는 대조구보다 낮은 경향을 보였으며(Table 5), 이러한 결과는 생균제의 급여로 혈장의 콜레스테롤이 감소되었다는 Santoso 등(1995), Abdulrahim 등(1996)의 보고와 동일한 경향이였다. HDL은 생균제 0.1% 급여구에서 대조구보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 혼합생균제의 급여로 HDL의 비율이 대조구에 비하여 높아졌다는 이홍룡(2001)의 보고와는 동일한 경향이였다. LDL은 대조구에서 48.25ml/dl로서 총콜레스테롤에 대한 비율이 52.32%였지만 생균제 0.1, 0.2, 0.3% 급여구에서 혈중 LDL함량은 36.29, 32.71, 32.04ml/dl로서 대조구보다 낮았으며 총콜레스테롤에 대한 비율도 36.07, 39.21, 38.77%로서 대조구의 52.32%보다 낮았다. 이러한 결과 미생물제 급여로 혈중 HDL의 비율은 증대하였으며 LDL

Table 5. Impact of feeding multiple probiotics on blood cholesterol in broiler chicks

Treatments (%)	T-cholesterol (ml/dl)	Triglycerol (ml/dl)	HDL (ml/dl)	LDL (ml/dl)
0	92.22 ^a	46.45	34.69 ^b	48.25
0.1	100.60 ^a	43.90	55.53 ^a	36.29
0.2	83.43 ^b	49.48	40.82 ^{ab}	32.71
0.3	82.65 ^b	47.29	41.15 ^{ab}	32.04
Pooled SE	2.58	1.92	1.44	2.03

비율은 저하되었다.

본 실험의 결과 육계사료에 미생물의 첨가·급여는 0.1% 수준에서 대조구에 비하여 약 80g이 증가되었으며 0.2% 수준에서는 약 100g이 증가되었다. 사료요구율은 미생물제 0.1과 0.2% 수준에서 각각 1.611과 1.623으로 대조구의 1.660에 비하여 개선되었다. 육계 사료에 생균제 첨가·급여로 ND 항체가는 대조구보다 현저하게 증대되었으며, 회장에서 살모넬라를 감소시키지 못하였지만 0.1% 급여수준에서 효모균 수를 증대하였고, 맹장에서 유산균과 효모균수가 대조구보다 높게 나타났다. 육계 사료내 미생물제의 첨가·급여는 혈중 총콜레스테롤에 대한 HDL의 함량 및 비율을 증가시키며, LDL의 비율이 낮았다.

적 요

육계에서 생균제의 급여에 대한 효과는 의견이 다양하다. 그러므로 본 연구는 육계 사료에 혼합 미생물제의 첨가가 성장능력, 장내 미생물, 혈중 콜레스테롤, 백신 항체가에 미

치는 영향을 구명하고자 실행하였다. 1일령 코우브 육계 수컷 320수를 혼합 생균제 0, 0.1, 0.2, 0.3%수준의 사료에 5반복으로 평사에서 35일간 사양실험을 하였다. 기초사료의 영양소는 사육전기와 후기에 각각 CP 21.5, 19%와 대사에너지는 3,100 kcal/kg으로 하였다. 증체량, 사료섭취량, 사료요구율은 주간별로 측정하였으며, 장내 살모넬라, 대장균, 유산균, 효모균 수는 실험 종료시에 회장과 맹장에서 측정하였다. ND 백신 항체가와 콜레스테롤도 실험 종료시에 처리구별로 채혈한 후에 혈장을 분리하여 분석하였다.

미생물제 0.1과 0.2% 급여구에서 사육전기에 증체량은 569.33, 679.75g으로 대조구보다 높았으며, 사육후기에도 동일한 경향을 보였다. 사육 전기 3주간에 사료요구율은 미생물 급여구에서 대조구보다 개선되는 경향을 보였으며, 전 사육기간에 1.611, 1.621로서 대조구의 1.660에 비하여 개선되었다. 미생물 급여구에서 ND백신 항체가는 대조구에 비하여 증대되었으며, 회장 소화물의 살모넬라수는 감소되지 않았지만 효모균 수는 0.1% 급여구에서 증가하였다. 맹장에서는 유산균과 효모균 수가 대조구보다 높게 나타났다. 혈중 전체 콜레스테롤은 0.1% 급여구에서 다른 처리구보다 높게 나타났을지라도 HDL의 비율은 대조구보다 현저하게 높았다(P<0.05).

본 연구의 결과 육계사료에 혼합 미생물제의 첨가는 육계의 생산능력과 간접적으로 면역능력을 개선할 수 있을 것으로 사료된다.

(색인 : 생균제, 증체량, 사료요구율, 백신항체가, 장내 미생물)

사 사

이 논문은 2003년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부 지원으로 이루어졌음.

인용문헌

- Abdulrahim SM, Haddadin MSY, Hashlamoun EAR, Robinson RK 1996 The influence of *Lactobacillus acidophilus* and Bacitracin on layer performance of chickens and cholesterol content of plasma and egg yolk. Br Poult Sci 37: 341-346.
- Beard CW, Hopkins SR, Hammond J 1975 Preparation of newcastle disease virus hemagglutination-inhibition test antigen. Avian Dis 19:692-699.
- Baba E, Nagaishi S, Fukuta T, Arakawa A 1991 The role of intestinal microflora on the prevention of *Salmonella* colonization in chickens. Poultry Sci 70:1902-1907.
- Line JE, Bailey JS, Nelson AC, Norman JS, Thomas T 1998 Effect of yeast supplemented feed on salmonella and campylobacter population in broilers. Poultry Sci 77:405-410.
- Parlat, S, Ozcan SM, Oguz SM 2001. Biological suppression of aflatoxicosis in Japanese quail(*Coturnix coturnix japonica*) by dietary addition of yeast(*Saccharomyces cerevisiae*). Res Vet Sci. 71(3):207-211.
- Santoso U, Tanaka K, Ohtani S 1995 Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. Br J Nutr 10(74):523-529.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT Guide Version 6.12 SAS, Institute Inc., Cary, NC.
- Tortuero F, Fernandez E 1995 Effects of inclusion of microbial cultures in barley-based diets fed to laying hens. Anim Feed Technol 53:255-265.
- Yeo JM, Kim KI 1997 Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or Yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poultry Sci 76:381-385.
- Van der Wielen PW, Van Knapen F, Biesterveld S 2002 Effect of administration of *Lactobacillus crispatus*, *Clostridium lactatifermentans* and dietary lactose on the development of the normal microflora and volatile fatty acids in the caeca of broiler chicks. Br Poult Sci 43(4):545-550.
- Zulkifli I, Abdullah N, Azrin NM, Ho YW 2000 Growth performance and immuneresponse of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. Br Poult Sci 12(41): 593-597.
- 김상호 박수영 유동조 나재천 최철환 박용윤 이상진 류경선 2000 육계 생산성 및 맹장 내 미생물에 대한 유산균의 첨가효과. 한국가금학회지 27(1):37-41.
- 김상호 박수영 유동조 이상진 류경선 2001 유산균과 버지니아마이신의 급여가 육계의 생산성 및 장내 미생물에 미치는 영향. 한국가금학회지 28(1):15-25.
- 남궁환 손익환 정진성 백인기 1986 생균제와 항생제가 병아

- 리의 성장과 장내 세균총에 미치는 영향. 한국가금학회지 13(1):49-55.
- 류경선 박홍석 1998. 생균제의 급여가 육계의 생산성과 장내 미생물의 변화에 미치는 영향. 한국가금학회지 25(1): 31-37.
- 류경선 여영수 류명선 박홍석 김상호 2000. 단일 및 혼합 생균제의 급여가 육계의 생산성 및 장내 미생물에 미치는 영향. 한국가금학회지 28(1):41-47.
- 박수영 김상호 유동조 이상진 류경선 2000. 유산균의 급여가 육계의 성장능력에 미치는 영향. 한국가금학회지 28(1):27-40.
- 박재홍 류명선 김상호 나종삼 김종승 류경선 2003. 효모배양물의 첨가사료가 계사내 유해가스 발생 및 육계의 생산성에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지 45(1):41-48.
- 이홍룡 2002. 목초액과 생균제의 급여가 가금의 생산성 및 생리작용인자에 미치는 영향. 전북대학교 논문집.
- 한인규 이상철 이진희 이금기 이정치 1984. 항생제 및 생균제 첨가가 육계의 생산성에 미치는 영향. 농업논문집 35:539-548.