

대두유 사료와 역전점등이 폭염 육계의 짧은 사슬지방산 및 성장능력에 미치는 영향

윤재성^{1†} · 강환구^{2†} · 류채민¹ · 박상오¹ · 박병성^{1†} · 황보종²
서옥석² · 채현석² · 최희철² · 최양호³

강원대학교 동물생명공학과¹, 국립축산과학원 가금과², 경상대학교 동물자원과³
(2013년 2월 17일 접수; 2013년 3월 21일 수정; 2013년 3월 22일 채택)

Effects of Inverse Lighting and Diet with Soy Oil on Growth Performance and Short Chain Fatty Acid of Broiler Exposed to Extreme Heat Stress

Jae-Sung Yoon^{1†} · Hwan-Ku Kang^{2†} · Chae-Min Ryu¹ · Sang-Oh Park¹ · Byung-Sung Park^{1†}
Jong Hwangbo² · Ok-Suk Seo² · Hyun-Seok Chae² · Hee-Chul Choi² · Yang-Ho Choi³

¹Department of Animal Biotechnology, Kangwon National University,
Chuncheon 200-701, Republic of Korea, ²National Institute of Animal Science, RDA,
Suwon 441-706, Republic of Korea,

³Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Republic of Korea
(Received February 17, 2013 ; Revised March 21, 2013 ; Accepted March 22, 2013)

요약 : 본 연구는 폭염 스트레스(extreme heat stress, EHS, $33 \pm 2^\circ\text{C}$)에 노출된 브로일러에서 대두유, 당밀, 아미노산, 비타민 C를 적절하게 함유하는 폭염사료 (extreme heat stress diet, EHSD)급여가 짧은 사슬지방산 및 성장능력에 미치는 영향을 조사하였다. 부화 당일 Ross 308 병아리 500 마리를 5 처리구로 완전임의배치 하였다. 각 처리구는 4반복을 가졌으며 각 반복은 25마리씩 배치하였다. 처리구는 역전점등과 함께 T1 (일반환경+기초사료 basal diet, BD), T2 (EHS+BD), T3 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체 및 당밀 2%를 함유하는 EHSD), T4 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체, 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 일반사료의 1.5배씩 함유하는 EHSD), T5 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체, 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 일반사료의 1.5배씩 추가 및 비타민 C 200 ppm을 함유하는 EHSD)로 구분하였다. 브로일러의 증체량은 T1, T2와 비교할 때 T4, T5에서 유의하게 증가하였다. 그리고 면역기관, F농, 흉선, 비장의 무게는 서로 비슷하였다. 또한 혈청 IgG, IgA, IgM 농도는 T4, T5가 T1, T2에 비교할 때 높았으나 코르티코스테론 농도는 유의하게 낮아졌다. 특히 맹장의 *Lactobacillus*는 T4, T5가 T1, T2에 비해서 증가하였으나 *Escherichia*, Coliform, Total aerobic bacteria는 오히려 유의하게 감소하였다. 초산, 프로피온산 및 총 짧은 사슬지방산 함량은 T4, T5가 T1, T2와 비교할 때 유의하게 높았다.

주제어 : 폭염스트레스, 대두유, 당밀, 아미노산, 비타민 C, 맹장미생물, 짧은 사슬지방산

†주저자 (E-mail : bspark@kangwon.ac.kr)

Abstract : This study investigated the effects of feeding the broilers that are exposed to extreme heat stress (EHS, $33\pm 2^{\circ}\text{C}$) with extreme heat stress diet (EHSD) containing adequate amount of soy oil and other nutrients on their growth performance. 500 broiler chickens (Ross 308) were randomized into five dietary treatment groups according to a randomized block design on the day they were hatched. Each group was further divided into four repeat pens with each repeat pen comprising 25 chickens. The five dietary treatment groups were: T1 (Normal ambient condition + basal diet (BD)), T2 (EHS + BCD), T3 (EHS + extreme heat stress diet (EHSD) prepared from BD with tallow replaced with soy oil and containing molasses 2%), T4 (EHS + EHSD prepared from BD with tallow replaced with soy oil and containing molasses 2% and methionine and lysine of 1.5 times greater quantities than in BD), and T5 (EHS + EHSD prepared from BD with tallow replaced with soy oil and containing molasses 2%, methionine and lysine of 1.5 times greater quantities than in BD, and vitamin C 200 ppm) with inverse lighting. The body weight gain of the broilers increased significantly in T4 and T5 as compared with that in T1 and T2. Weights of the lymphoid organ, bursa of Fabricius, thymus, and spleen were similar between all groups. Serum concentrations of IgG, IgG and IgM were higher in T4 and T5 than in T1 and T2, but the corticosterone concentration decreased significantly in them. In T4 and T5, *Lactobacillus* in the cecum increased, but *Escherichia*, coliform, and total aerobic bacteria decreased rather significantly, compared with those in T1 and T2. Contents of acetic acid, propionic acid and total SCFA were significantly higher in T4 and T5 than in T1 and T2.

Keywords : Extreme heat stress, soy oil, molasses, amino acid, vitamin C, cecum microflora, short chain fatty acid.

1. 서론

양계생산과 관련하여 여름철 폭염 스트레스는 브로일러의 사료섭취량과 증체량 감소 및 높은 희생을 초래하여 경제적 피해를 가중시킨다는 점은 잘 알려져 있다[1-3]. 브로일러의 사료이용과 증체량을 최적화하기 위한 환경온도는 21°C 정도 이어야 한다[4]. 성숙한 닭의 체온은 정상적으로 $41-42^{\circ}\text{C}$ 이고 환경온도가 올라갈 때 체온도 상승하며 고온환경에서 사료섭취량과 증체량 감소가 알려졌다. 환경온도가 32°C 까지 올라가면 열 스트레스가 발생하고 희생율에 영향하지 않지만 37°C 까지 올라가면 희생율이 증가하는 것으로 관찰되었다[5-7]. 성장하는 브로일러에서 체중과 열 스트레스에 대한 저항성 사이에는 부의 표현형 상관이 보고되었다[8]. 폭염은 병아리의 특이적 면역반응을 억압하며 32°C 에 노출된 브로일러는 사료섭취량이 24% 감소한다[9]. 폭염 스트레스에 대한 역효과를 완화시키기 위한 몇 가지 영양학적 전략이 제시되었다. 열 스트레스 하에서 단백질 수준을 높여주면 오히려 더 많은 대사열

을 발생하기 때문에 메치오닌, 라이신과 같은 필수아미노산을 높여주는 것이 도움이 된다. 또한, 에너지 공급 및 기호성이 높은 대두유, 당밀을 제공하여 줌으로써 사료섭취량을 자극하거나 비타민 C의 공급은 열 스트레스를 최소화 하는데 도움이 된다[10-11]. 고온환경에서 사육된 브로일러의 증체량에 대한 메치오닌과 라이신의 급여 효과는 연구자의 실험방법에 따라서 다양한 결과를 나타내는 것으로 보고되었다[1, 12-13]. 대두유는 브로일러에서 에너지 이용율이 높을 뿐만 아니라 당밀과 함께 우수한 에너지 급원으로 이용된다[14-15]. 고온환경에 노출된 브로일러에게 비타민 C의 공급은 신체 영양소 특히, 에너지 저장에 영향하며 대사율을 유지함으로써 혈액 코르티코스테론을 낮추고 사양성적을 개선할 수 있음이 보고되었다[16]. 그러나, 브로일러에서 우지를 대두유로 대체 및 당밀, 메치오닌, 라이신, 비타민 C가 적절한 수준으로 강화된 폭염 스트레스 사료와 성장률 사이의 이해는 부족하다.

본 연구의 목표는 폭염 스트레스에 노출된 브로일러에서 역전점등과 대두유와 함께 영양급원

이 강화된 폭염 스트레스 사료의 야간 제한급여가 혈액 면역물질, 면역기관, 맹장 미생물, 짧은 사슬지방산 및 성장능력에 미치는 영향을 조사하는 것이었다.

2. 실험

2.1. 실험설계

부화당일 Ross 308 병아리 500 마리를 5처리구로 완전임의배치 하였고 각 처리구 당 4반복을 갖는 펜 당 25마리씩 배치하였다. 처리구는 T1 (일반환경+기초사료 basal diet, BD), T2 (폭염 extreme heat stress, EHS+BD), T3 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체 및 당밀 2%를 함유하는 폭염사료 extreme heat diet, EHSD), T4 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체, 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 일반사료의 1.5배씩 함유하는 EHSD), T5 (EHS+BD 내 우지를 대두유로 대체, 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 일반사료의 1.5배씩 추가 및 비타민 C 200 ppm을 함유하는 EHSD)로 구분하였다. BD와 EHSD는 NRC (National Research Council) 영양소요구량[17]에 따라서 옥수수, 대두박 위주로 배합하였다. T3-T5 EHSD는 BD에 첨가되는 우지를 에너지 이용율과 기호성이 우수한 대두유와 당밀로 대체 및 추가하였다. 메치오닌과 라이신, 비타민 C를 BD 내 첨가수준보다 높게 조절하였으며 영양소 급원의 첨가에 따른 실제 사료 원료의 구성비는 옥수수를 줄여서 배합하였다. BD와 EHSD의 조단백질과 대사에너지는 동일하게 조절하였으며 NRC 영양소요구량을 충족 또는 약간 초과하도록 배합하였다 (Table 1). 깔짚으로써 왕겨를 각 펜의 바닥 10 cm 높이로 깔아주었으며 사육실의 온도는 입추당일에서 3일까지는 33°C로 유지하였고 그 다음부터 주당 2~3°C씩 낮췄다. 시험개시부터 27일령까지는 일반환경 하에서 연속조명 및 일반음수 (25-28°C)와 함께 BD 및 각 처리구에 해당하는 EHSD를 무제한 급여하였다. T1을 제외한 기타 처리구는 28일령부터 32일령까지 5일 동안 낮에는 일반음수를 급여하였고 주간 소등 및 실험사료를 철회하였으며 EHS 시 야간점등 및 EHSD를 제한급여 하였다. EHS 2시간이 지난 후부터 실험사료를 일일 마리당 120 g씩 일반음수와 함께 제한급여 (18:00-24:00 마리 당 60 g 수동급여 +24:00-08:00 마리 당 60 g 자동급여)하였다.

또한, 일일 5시간 (11:00-16:00)씩 EHS (33±1°C)와 함께 상대습도 70%를 유지하였고 12시간 점등조절 (암 08:00-20:00, 명 20:00-08:00)을 실시하였다. 일일 중 EHS가 끝난 후 환경온도는 25°C로 유지하였다. 동물실험을 위한 과학적, 윤리적인 절차는 유럽실험동물취급면허 교재에서 제시된 규정을 준수하였으며[18] 강원대학교 동물실험윤리위원회로부터 승인을 얻었다.

2.2. 도계 및 혈액채취

도계 12시간 전에 실험사료를 철회하였고 실험 종료 시에 각 처리구의 반복 펜으로 부터 평균 체중에 가까운 병아리 20마리 (각 펜 당 5마리)를 선별하여 채혈 후 실험동물 안락사 권장[19]에 따라서 경추탈골에 의해서 스트레스를 주지 않고 안정적으로 희생하였다. 혈액 3 mL를 plain tubes (Greiner Co Ltd, Australia) 속으로 심장을 경유하여 각 조류로부터 얻었다. 혈액 시료를 4°C에서 20분간 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. -196°C의 액체질소에서 급속동결한 다음 생화학적 분석 시까지 -20°C에서 보관하였다.

2.3. 혈액 면역물질

혈청 IgG, IgA, IgM 농도를 chicken ELISA kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)를 이용하여 정량하였다. 제조사의 프로토콜에 따라서 처리한 다음 precision microplate reader (Molecular Devices Inc, New York, USA)에 의해서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 항체 양을 계산하였다.

2.4. 혈액 코르티코스테론

혈청을 분리하여 스트레스 호르몬, Corticosterone HS EIA kit (Enzymeimmunoassay kit, IDS, Ltd., Boldon, UK)을 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라서 corticosterone를 측정하였다.

2.5. 맹장 미생물

도계 후 곧 바로 장내 미생물을 조사하기 위해서 혐기적인 방법으로 맹장을 채취한 후 얼음 위에서 유지하였다. 맹장은 분석 시 까지 AnaeroGen sachets (Oxoid, Hampshire, UK)가 갖춰진 Sealed anaerobic jars (Oxoid, Basingstoke, UK)에서 혐기상태로 유지하였다.

Table 1. Composition of Basal Diets for Broiler Chickens

Ingredients (% as-fed)	Growing stage	
	Starter (0-21 days)	Grower (22-32 days)
Yellow corn	52.00	50.00
Soybean meal	34.00	25.00
Corn gluten meal	4.70	5.70
Wheat meal	-	10.00
Tallow	5.00	5.00
Limestone	1.25	1.25
Dicalcium phosphate	1.70	1.70
Sodium chloride	0.25	0.25
DL-methionine (50%)	0.30	0.30
L-lysine HCl (78%)	0.30	0.30
Trace mineral premix ¹⁾	0.34	0.34
Vitamin premix ²⁾	0.16	0.16
Total	100	100
Chemical composition		
Metabolizable energy (kcal/kg)	3,100	3,150
Crude protein (%)	22.00	20.00
Lysine (%)	1.32	1.15
Methionine (%)	0.52	0.50
Methionine+Cystine (%)	0.78	0.73
Calcium (%)	1.00	0.90
Available phosphorus (%)	0.45	0.40

¹⁾ Supplied per kilogram of diet: Fe, 80 mg; Zn, 80 mg; Mn, 70 mg; Cu, 7 mg; I, 1.20 mg; Se, 0.30 mg; Co, 0.70 mg.

²⁾ Supplied per kilogram of diet: vitamin A (retinyl acetate), 10,500 IU; vitamin D₃, 4,100 IU; vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), 45 mg; vitamin K₃, 3.0 mg; thiamin, 2.5 mg; riboflavin, 5 mg; vitamin B₆, 5 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; biotin, 0.18 mg; niacin, 44 mg; pantothenic acid, 17 mg; folic acid, 1.5 mg.

맹장 내용물을 멸균된 혐기성 생리식염수 (phosphorus buffered saline; PBS 0.1 M, pH 7.0)로 혼합하여 10배 희석 (1:9, wt/vol) 한 다음에 일련의 희석을 계속하였다. 모든 절차는 Anaerobic chamber (5% hydrogen, 5% CO₂, Balanced nitrogen)에서 혐기상태로 이루어졌다. 배양은 희석된 10⁻²~10⁻⁷에서 각각 100 μ L를 분주하여 멸균된 평판 선택배지 즉 *Lactobacillus* sp. (MRS agar, Oxoid, Basingstoke, UK), *Escherichia* sp. (McConkey purple agar, Difco), Coliform bacteria (Violet red bile agar, Difco), Total aerobic bacteria

(Nutrient agar, Difco)에서 실행하였다. *Escherichia coli*, Coliform, Total aerobic bacteria는 37°C에서 24시간 호기배양하였고 *Lactobacillus* sp.는 Anaero Gen sachets가 갖춰진 Sealed anaerobic jars를 이용한 혐기상태 하에서 37°C, 48시간 정지배양한 후 각각의 평판배지에서 미생물카운터로써 Colony의 수를 조사하였다. 모든 미생물 균락의 수는 맹장내용물 g당 균수, Colony-forming unit(Cfu)/g of wet of cecum content)로써 상용로그를 취하여 제시하였다.

2.6. 짧은 사슬지방산

희생한 닭으로부터 맹장을 채취하였고 용적이 적었기 때문에 처리구 펜 당 7개 시료를 한군데 모아서 하나의 시료로 하여 짧은 사슬지방산 (Short chain fatty acid, SCFA)을 Gas chromatographic system (model GC-15A, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)에 의해서 측정하였다[20]. 20 mL 스크류캡튜브 속으로 맹장내용물 5 g을 넣어서 증류수 5 mL와 혼합하였다. Ultra turrax를 이용하여 균질화 후 4°C 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액 1 mL를 앰플병으로 옮긴 후 0.2 mL의 25% H₃PO₄ 용액을 첨가하여 산성화하였다. 시료를 균질화한 다음에 앰플병을 30분 이상 얼음 위에서 유지하였다. GC 분석하기 전에 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. GC는 불꽃이온화검출기와 Chromosorb WAW에 10% SP-1000/1% H₃PO₄으로 충전된 Glass column (180cm×4mm, Supelco, Inc., Bellefonte, PA)가 부착되었으며 칼럼은 운반가스로서 고순도 N₂(1.8mL/min)와 함께 100-150°C에서 운전하였다. Flow rate는 33 mL/min이었다.

2.7. 통계분석

자료는 SAS software의 GLM procedure를 사용하여 분산분석(ANOVA)에 의해서 분석하였고 Duncan's multiple range test에 의해서 모든 자료에 대한 통계적인 유의차는 P<0.05에서 검정하였다[21].

3. 결과

3.1. 성장능력

EHS에 노출된 브로일러에게 EHSD를 급여한 이후 조사된 전체 실험기간 동안 사양성적은 Table 2에서 요약하였다. 전체 기간 중 증체량은 T1, T2와 비교할 때 T4, T5에서 유의하게 증가하였다. 한편, T3는 T1, T2와 비교할 때 높은 경향을 보였고 EHS 하에서 BD를 섭취한 T2가 낮은 경향을 나타냈으나 이들 처리구 간 통계적인 유의차는 인정되지 않았다. 일반환경에서 연속조명과 함께 일반음수 및 BD를 무제한 급여한 0-21일 동안의 전체 처리구의 증체량은 서로 비슷하였다. 22-27일 사이에는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4, T5 순서로 높았으며 각 처리구 사이

의 유의차가 인정되었다. 28-32일 사이에는 T5가 가장 높았으며 T1, T2, T4, T3 순서로 유의하게 높게 나타났다. 사료섭취량은 전체 기간 중 T2가 유의하게 가장 낮았고 T3, T4, T5가 T1에 비해서 약간 높은 경향을 보였으나 이들 사이의 유의차는 없었다. 0-21일 동안은 서로 비슷하였다. 22-27일 동안에는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4가 유의하게 높았으나 T1, T2, T5 사이는 서로 비슷하였다. 28-32일 동안에는 T5가 T1에 비해서 높은 경향을 나타냈으나 이들 사이의 유의차는 없었고 이 두 개의 처리구는 T2, T3, T4에 비해서 유의하게 높았다. T2는 T3, T4에 비해서 유의하게 높았으나 T3, T4 사이의 통계적 유의차는 인정되지 않았다. 전체 기간 중 사료효율은 T1, T2와 비교할 때 T4, T5가 유의하게 높았으나 T4, T5 사이 및 T1, T2, T3, T4 사이의 통계적인 유의차는 인정되지 않았다. 결과는 T4, T5의 EHSD가 EHS에 노출된 브로일러의 성장능력을 향상시킬 수 있음을 나타낸다.

3.2. 면역기관 발육

EHS에 노출된 브로일러에게 EHSD를 급여한 이후 조사된 면역기관, F낭(Bursa of Fabricius), 흉선, 비장의 무게는 Table 3에서 보는 바와 같다. T1, T2, T4, T5는 F낭의 무게를 서로 비슷하게 증가하였으나 T3는 감소하였고 이들 사이의 통계적인 유의차가 인정되었다. 비장의 무게는 T3에서 유의하게 감소하였으나 T1, T3 사이 그리고 T2, T4, T5 사이의 통계적인 유의차는 없었다. 흉선의 무게는 T1, T2와 비교할 때 T5가 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의차는 없었고 T3, T4는 유의하게 감소하였다. 결과적으로 면역기관 무게는 EHS에 노출된 브로일러에서 EHSD의 섭취로 큰 차이가 없었음을 보여준다.

3.3. 혈액 면역물질과 코르티코스테론

EHS에 노출된 브로일러에게 EHSD를 급여한 이후 측정된 혈청 면역물질과 코르티코스테론의 농도는 Table 4에서 보는 바와 같다. 혈청 IgG 농도는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4, T5가 높았으며 각 처리구 간 통계적 유의차가 인정되었다. 특히, T5는 모든 처리구 가운데서 가장 높았으며 T1, T2와 비교할 때 각각 190.33, 277.98% 더 높게 나타났다. 혈청 IgA 농도는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4, T5가 높았으며 각 처리구 간 통계적 유의차가 인정되었다. 특히, T4는 모든 처

Table 2. Growth Performance of Broiler Chickens Fed Experimental Diets for 32 Days

Item	Groups					Pooled SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
Body weight gain (0-21 days)	1,064	1,059	1,058	1,060	1,066	20.215
(22-27 days/daily)	64.83 ^d	63.00 ^d	82.00 ^a	79.66 ^b	68.01 ^c	0.8902
(28-32 days/daily)	41.37 ^b	37.44 ^c	23.25 ^e	34.02 ^d	50.41 ^a	1.5071
(0-32 days)	1,658 ^b	1,624 ^b	1,666 ^b	1,708 ^a	1,726 ^a	22.081
Feed intake (0-21 days)	1,624	1,620	1,638	1,631	1,624	27.025
(22-27 days/daily)	93.33 ^b	96.83 ^b	127.2 ^a	127.7 ^a	97.71 ^b	18.155
(28-32 days/daily)	105.4 ^a	96.04 ^b	76.32 ^c	75.80 ^c	110.5 ^a	3.7711
(0-32 days)	2,707 ^a	2,681 ^b	2,781 ^a	2,772 ^a	2,760 ^a	21.098
Feed efficiency (0-32 days)	0.61 ^b	0.61 ^b	0.60 ^b	0.62 ^{ab}	0.63 ^a	0.0052
Mortality (%)	1	0	0	0	0	-

T1, normal environment+chow diet, CD; T2, extreme heat stress, EHS+CD; T3, EHS+extreme heat diet, EHD in which the tallow in CD was substituted by soy oil and containing 5% molasses; T4, EHS+EHD in which the tallow in CD was substituted by soy oil and containing 5% of molasses, and 1.5 times more methionine and lysine than CD; T5, EHS+EHD in which the tallow in CD was substituted by soy oil, containing 5% of molasses, 1.5 times more methionine and lysine than CD, and 300ppm of vitamin C. ^{a,b,c,d}p<0.05.

Table 3. Lymphoid Organ Weight of Broiler Chickens Fed Experimental Diets for 32 Days

(Organ weight/body weight, %)

Item	Groups					Pooled SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
Bursa of Fabricius, %	0.23 ^a	0.22 ^a	0.18 ^b	0.21 ^a	0.24 ^a	0.0057
Spleen, %	0.17 ^{ab}	0.18 ^a	0.15 ^b	0.18 ^a	0.19 ^a	0.0032
Thymus, %	0.20 ^a	0.21 ^a	0.17 ^b	0.18 ^b	0.22 ^a	0.0069

Table 4. Serum Immunoglobulin and Corticosterone Levels in Broiler Chickens Fed Experimental Diets for 32 Days ($\mu\text{g/mL}$)

Item	Groups					Pooled SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
IgG	141.7 ^c	97.02 ^e	101.5 ^d	222.1 ^b	269.7 ^a	
IgA	30.13 ^d	30.38 ^d	34.07 ^c	64.74 ^a	50.10 ^b	
IgM	40.61 ^e	47.95 ^d	64.85 ^b	61.88 ^c	70.13 ^a	
Corticosterone	90.04 ^a	67.19 ^c	75.61 ^b	65.01 ^d	57.33 ^e	

리구 가운데서 가장 높았으며 T1, T2와 비교할 때 각각 166.27, 164.91% 더 높았다. 혈청 IgM 농도는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4, T5가 높았으며 각 처리구 간 통계적 유의차가 인정되었다. 특히, T5는 모든 처리구 가운데서 가장 높았으며 T1, T2와 비교할 때 각각 172.69, 146.25% 더 높았다. 결과는 T4, T5의 EHS를 급여할 경우 EHS에 노출된 브로일러의 IgG, IgA, IgM 농도를 더욱 높일 수 있음을 나타낸다. 혈청 코르티코스테론의 농도는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4, T5가 낮았으며 각 처리구 간 통계적 유의차가 인정되었다. 특히, T5는 모든 처리구 가운데서 가장 낮았으며 T1, T2와 비교할 때 각각 36.33, 14.67% 더 낮게 나타났다. 결과는 EHS에 노출된 브로일러에게 T4, T5의 EHS를 급여할 경우 혈청 면역단백질의 농도가 증가하며 코르티코스테론의 농도가 낮아졌음을 나타낸다.

3.4. 맹장 미생물

EHS에 노출된 브로일러에게 EHS를 급여한 이후 측정된 맹장 미생물 변화는 Table 5에 나타났다. T1, T2와 비교할 때 *Lactobacillus* sp.는 T3, T4, T5가 높았으며 각 처리구 사이의 통계적 유의차가 나타났다. 특히, T5는 가장 높게 나타났으며 T1, T2에 비해서 각각 156, 178% 증가하였다. Total aerobic bacteria 및 coliform bacteria는 T1, T2와 비교할 때 T3, T4에서 높았으나 T5는 유의하게 낮아졌다. 특히, T5는 T1, T2에 비해서 Total aerobic bacteria 및 coliform bacteria에서 각각 5.63, 9.24 및 4.27, 11.45% 감소하는 경향을 보였다. *Escherichia* sp.는 T1, T5, T2, T3, T4 순서로 낮게 나타났으며 각 처리구 사이의 통계적 유의차가 인정되었다. 결과

는 EHS에 노출된 브로일러에게 T5의 EHS를 급여할 경우 맹장 미생물 군총의 유지가 향상되었음을 나타낸다.

3.5. 짧은 사슬지방산

EHS에 노출된 브로일러에게 EHS를 급여한 이후 측정된 맹장 SCFA 함량의 변화는 Table 6에 나타났다. 초산, 프로피온산 및 총 짧은 사슬 지방산 함량은 T1, T2와 비교할 때 T4, T5가 유의하게 높았다. T3는 T1에 비해서 유의하게 낮았으나 T2, T3 사이의 통계적 유의차는 나타나지 않았다. 뷰티르산, 이소뷰티르산, 발레르산, 이소발레르산은 T1, T2와 비교할 때 T4, T5가 유의하게 낮게 나타났다. 한편, T1과 비교할 때 T2, T3에서 뷰티르산, 이소뷰티르산이 유의하게 높았으나 T2, T3 사이의 유의차는 없었고 발레르산, 이소발레르산은 T1, T2, T3에서 서로 비슷하였다. 결과는 EHS에 노출된 브로일러에게 T4, T5의 EHS를 급여할 경우 맹장 짧은 사슬지방산의 함량이 증가되었음을 나타낸다.

4. 고찰

본 결과의 새로운 발견은 EHS 하에서 역전점 등과 함께 우지를 대두유 5%로 대체함과 동시에 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 0.45%, 비타민 C 200ppm을 함유하여 제조된 EHS의 야간 제한급여가 브로일러의 증체량을 개선할 수 있다는 사실이다. 결과는 EHS 하에서 12시간 야간조명 및 EHS를 야간 제한급여 한 T4, T5가 일반환경과 EHS 하에서 연속조명과 함께 BD를 섭취한 T1, T2 및 BD 내 우지를 대두유로 대체

Table 5. Cecum Microflora in Broiler Chickens Fed Experimental Diets for 32 Days

(log₁₀cfu/g)

Item	Groups					Pooled SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
<i>Lactobacillus</i>	4.72 ^e	4.15 ^d	5.83 ^c	7.51 ^b	7.38 ^a	0.1815
<i>Escherichia</i>	2.83 ^e	3.13 ^c	3.73 ^b	4.16 ^a	3.09 ^d	0.1377
Coliform bacteria	7.03 ^d	7.60 ^c	8.57 ^a	8.07 ^b	6.73 ^e	0.1215
Total aerobic bacteria	7.81 ^d	8.12 ^c	9.06 ^a	8.68 ^b	7.37 ^e	0.0831

Table 6. Short Chain Fatty Acid (SCFA) in Cecum of Broiler Chickens Fed Experimental Diets for 32 Days

(μmol/g of cecum content)

SCFA	Groups					Pooled SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
Acetic acid	100.77 ^b	87.01 ^c	86.43 ^c	128.19 ^a	127.03 ^a	8.1760
Propionic acid	33.09 ^b	24.34 ^c	22.03 ^c	36.51 ^a	35.81 ^a	0.5380
Butyric acid	10.51 ^b	13.74 ^a	15.87 ^a	5.12 ^c	4.89 ^c	0.7489
Isobutyric acid	6.50 ^b	8.09 ^a	7.88 ^a	4.67 ^c	4.71 ^c	0.5801
Valeric acid	5.52 ^a	5.66 ^a	5.93 ^a	3.09 ^b	1.55 ^c	0.1255
Isovaleric acid	3.07 ^a	3.26 ^a	3.70 ^a	1.17 ^b	1.25 ^b	0.3821
Total SCFA	159.4 ^b	142.1 ^c	141.84 ^c	178.7 ^a	175.2 ^a	7.1885

및 당밀 2%를 함유하는 EHD를 섭취한 T3 브로일러에 비해서 체중이 유의하게 증가하였다. 이는 T4, T5에 함유된 대두유, 당밀, 메치오닌, 라이신, 비타민 C 등 영양소 급원의 적정농도에 의한 상승작용으로 생각할 수 있다. EHS에 노출되기 1주일 전부터 공급된 영양소가 동물의 생체 내 이용율이 높아지고 충분히 축적되어서 EHS에 대한 저항력이 강해졌기 때문으로 추정해 볼 수 있다. 즉 T1, T3, T4, T5의 사료섭취량이 서로 비슷하였다는 점에서 볼 때 위와 같은 결과의 해석이 가능하다. EHS 하에서 단백질 수준을 높여주면 오히려 더 많은 대사열을 발생하기 때문에 메치오닌, 라이신과 같은 필수아미노산을 높여주는 것이 도움이 된다. 또한, 기호성이 높은 대두유 soy oil, 당밀을 제공하여 줌으로써 사료섭취량을

자극하거나 비타민 C의 공급은 열 스트레스를 최소화 하는데 도움이 된다[11]. 이러한 영양소 급원들은 동물의 생체이용율이 높기 때문에 면역기관 발육을 자극하여 혈청 IgG, IgA, IgM의 분비량을 높임과 동시에 스트레스 호르몬, corticosterone의 농도를 낮추는데 (Table 4)에 기여하였을 것으로 생각된다[7]. 열 스트레스 하에서 브로일러의 증체량, 사료섭취량 및 사료이용율은 체온과 관련이 있으며 21°C와 비교할 때 32°C의 열스트레스에 노출될 경우 급격한 체온 상승으로 인하여 브로일러의 증체량과 사료효율이 낮아진다[5, 22-24]. 저자들은 또 다른 연구에서 일반음수 공급과 함께 연속조명 및 EHS에 노출되었을 때 상기 영양소 급원의 조합으로 제조된 EHS의 무제한으로 급여한 브로일러에서 성장

능력이 유의하게 낮아졌음을 보고하였다. 저자들은 EHS 하에서 연속조명과 함께 본 연구와 동일한 영양소 급원을 사용하여 제조된 EHSD를 무제한 급여하였으며, 이 때 다른 영양소 급원의 농도는 동일한 수준이었으나 당밀 5%, 비타민 C 300 ppm으로 본 연구에서 사용된 농도보다는 약간 높았다[25]. 한편, T4, T5의 체중이 T1, T2, T3와 비교할 때 유의하게 높았던 점은 맹장에서 초산, 프로피온산과 같은 짧은 사슬지방산의 생성이 증가한 (Table 6) 점과 관련이 있을 것으로 생각한다. 결과적으로 건강에 유익한 *Lactobacillus*의 성장을 자극하였음과 동시에 유해한 미생물의 성장이 억압됨으로써 장내 균총이 유지되었고 (Table 3) 혈청 IgG, IgA, IgM의 농도 증가 (Table 4)로 인한 면역능력을 부여받은 상태에서 EHS에 노출된 동물의 건강이 증진되었을 것으로 생각할 수 있다. 한편, 닭고기 품질과 관련하여 증체율이 빠른 계통의 닭이 pH가 낮고 사료 내 단백질의 수준이 증가할수록 닭고기의 pH 값은 내려가는 것으로 알려져 있으며, 도계 전 열스트레스는 닭고기의 pH를 낮추고 근육 부위별 색상과 조리손실에 나쁜 영향을 나타내는 것으로 보고되었다[26]. 그러나 본 연구는 폭염하에서 생산된 닭고기의 부위에 따른 근육의 색상 변화, pH, 조리손실, 전단력 등의 물리적 특성은 조사하지 않았다.

면역기관의 발육은 T3이 유의하게 가장 낮았음을 제외하면 대부분의 처리구가 서로 비슷하였다. 그러나 T4, T5의 혈청 IgG, IgA, IgM 농도는 T1, T2, T3와 비교할 때 증가하였고 스트레스 호르몬, corticosterone을 낮출 수 있었다. 이러한 결과는 EHS에 의해서 사료섭취량이 감소하지 않았으며 이에 의하여 면역물질을 분비하는 면역기관 세포증식에 필요한 영양소가 충분히 공급되었을 것으로 볼 수 있다[27-28]. T4, T5에서 IgG, IgA, IgM이 증가한 점은 *Lactobacillus* 증가에 의한 면역능력의 자극으로 볼 수 있으며 T1, T2, T3에서 IgG, IgA, IgM이 감소한 점은 EHS에 의해서 체액성면역 능력이 억압되었음을 의미한다. *Lactobacillus* sp.와 *Bifidobacteria*는 유익한 균으로써 널리 알려져 있으며 이러한 균들은 소장으로부터 유입된 미분해 영양소를 발효시켜 에너지 공급, 지질대사 개선 및 면역능력을 자극하는 것으로 보고되었다[29-30]. 본 연구에

서는 *Bifidobacteria*의 변화는 조사하지 못했다. 면역단백질은 골수의 B-cell에서 만들어지며 체액성면역의 지표가 되는 IgG는 혈액 중 90% 이상을 차지한다. 브로일러에서 IgG, IgA, IgM은 포유동물의 면역단백질과 생물학적 특성이 비슷하다[31]. 동물에서 흉선, 비장은 항체생산을 위한 중요한 기관이며 특히 조류의 면역기관은 F낭이 포함된다. 이러한 브로일러의 면역기관은 IgM을 IgG로 전환시키거나 IgA의 작용을 활성화 시키는데 필수적이다[32]. 따라서 낮아진 혈청 IgG, IgA, IgM 농도에 기인한 스트레스 호르몬, corticosterone의 감소 역시 EHS 하에서 발견된 림프기관의 회귀결과일 것으로 볼 수 있다. 면역기관의 발육은 면역체계 기능성의 기초가 되며 F낭은 B-림프구의 발달 및 기능적인 성숙연구에 사용된다[33-34].

본 결과, *Escherichia*, coliform, total aerobic bacteria의 감소는 짧은 사슬 지방산 및 브로일러의 성장을 향상시키는 경향을 갖는 것으로 사료된다 (Table 2, Table 5, Table 6). 브로일러의 과학적인 절차 실험에서 이들 변수 측정결과는 대조군과 상대적인 비율을 비교하여 그 결과를 해석할 수 있으며 이와 관련한 절대적인 통계 기준치는 알려져 있지 않다. EHSD를 섭취한 T4, T5에서 숙주동물에게 유익한 초산, 프로피온산 등의 짧은 사슬지방산이 높아졌고 동물의 장 기능 활성화에 유익한 *Lactobacillus*가 증가한 점은 유해한 *Escherichia*, coliform, total aerobic bacteria가 감소한 점과 관련이 있는 것으로 볼 수 있다[35]. *Lactobacillus*는 *Escherichia* 등 유해균의 성장을 억압하는 박테리옌을 분비하며 유익균이 충분히 서식할 수 있도록 장 환경을 개선해주는 짧은 사슬지방산을 생성한다. 따라서 *Lactobacillus*의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산, 젖산과 함께 초산, 프로피온산은 유해균에 의한 장 균락화를 억압할 수 있다[35, 36-39]. T4, T5에서 나타난 맹장 *Escherichia*, coliform, total aerobic bacteria가 유의하게 낮아진 이유는 바로 이러한 기전의 일부라고 생각된다. 동물의 소화관에서 미생물은 발효산물을 생합성해서 장 상피세포의 발육에 필요한 에너지를 공급해주고 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 그리고 외인성 병원균의 균락화에 대한 저항성을 나타낸다는 점에서 매우 중요하다[40].

5. 결론

본 결과, 폭염스트레스 하에서 역전점등과 함께 우지를 대두유 5%로 대체함과 동시에 당밀 2%, 메치오닌과 라이신을 각각 0.45%, 비타민 C 200ppm을 함유하여 제조된 폭염사료의 야간 제한급여가 브로일러의 증체량을 개선할 수 있다는 새로운 사실을 발견하였다. 폭염에 노출된 브로일러에게 폭염사료를 급여했을 때 대조군에 비해서 혈액 면역물질의 농도가 증가하였고 코르티코스테론의 농도가 낮아졌음을 확인하였다. 또한 맹장의 *Lactobacillus* sp.는 높았고 Total aerobic bacteria, Coliform bacteria 및 *Escherichia* sp.는 낮았으며 초산, 프로피온산 및 총 짧은 사슬지방산은 높았고 뷰티르산, 이소뷰티르산, 발레르산, 이소발레르산은 낮았음을 확인하였다. 따라서 폭염사료가 혈액 면역물질, 맹장 내 짧은 사슬지방산의 증가 및 유익한 *Lactobacillus*의 증식을 자극함과 동시에 이익이 되지 않거나 또는 유해한 미생물의 성장을 억압하는 기작을 경유하여 브로일러의 성장을 향상시키는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2011년도 농촌진흥청 아젠다 사업에 의해서 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. A. A. Mendes, S. E. Watkins, J. E. England, E. A. Saleh, A. L. Waldroup, and P.W. Waldroup, Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age, *Poult. Sci*, 76, 472-481 (1997).
2. J. D. May, B. D. Lott, and J. D. Simmons, The effect of environmental temperature and body weight on growth rate and feed: Gain of male broilers, *Poult. Sci*, 77, 499-501 (1998).
3. W. M. Quinteiro-Filho, A. Ribeiro, V. Ferraz-de-Paula, M. L. Pinheiro, M. Sakai, L. R. S, A. J. Ferreira, and J. Palermo-Neto, Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens, *Poult. Sci*, 89, 1905-1914 (2011).
4. F. N. Reece, and J. W. Daton, Use of a time-proportioning thermostat for control of poultry house environment, *Poult. Sci*, 50, 1622-1626 (1971).
5. M. A. Cooper, and K. W. Washburn, The relationships of body temperature to weight gain, feed consumption, and feed utilization in broilers under heat stress, *Poult. Sci*, 77, 237-242 (1998).
6. A. Donkoh, Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens, *Int. J. Biometeorol*, 32, 259-265 (1989).
7. A. Y. Han, M. H. Zhang, X. I. Zuo, C. F. Zhao, J. H. Feng, and C. Cheng, Effect of acute heat stress on calcium concentration, proliferation, cell cycle, and interleukin-2 production in splenic lymphocytes from broiler chickens, *Poult. Sci*, 89, 2063-2070 (2010).
8. K. W. Washburn, R. Peavey, and G. M. Renwick, Relation of strain variation and feed restriction to variation in blood pressure response to heat stress, *Poult. Sci*, 59, 2586-2588 (1980).
9. Z. Y. Niu, F. Z. Ilu, and Q. I. Yan, Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress, *Poult. Sci*, 88, 2101-2107 (2009).
10. S. Temim, A. M. Chagneau, S. Guillaumin, J. Michel, R. Peresson, and S. Tesseraud, Does excess dietary protein improve growth performance and carcass characteristics in heat-exposed chickens, *Poult. Sci*, 79, 312-317 (2000).
11. S. Leeson, and J. D. Summers, Commercial poultry nutrition. University books. Guelph. Ontario. NIH 6N8, Canada. (1991).
12. R. Gonzalez-Esquerria, and S. Leeson,

- Effect of arginine:lysine ratios and source of methionine on growth and body protein accretion in acutely and chronically heat-stressed broilers, *Poult. Sci.*, 85, 1594-1602 (2006).
13. C. D. Knight, C. W. Wuelling, C. A. Atwell, and J. J. Dibner, Effect of intermittent periods of high environmental temperature on broiler performance responses to sources of methionine activity, *Poult. Sci.*, 73, 627-639 (1994).
 14. S. D. Sharifi, A. Dibamehr, H. Lotfollahian, and B. Baurhoo, Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens, *Poult. Sci.*, 91, 918-927 (2012).
 15. J. P. Jacob, and C. A. Carter, Inclusion of buckwheat in organic broiler diets, *J. Appl. Poult. Res.*, 17, 522-528 (2008).
 16. J. S. McKee, P. C. Harrison, and G. L. Riskowski, Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal, *Poult. Sci.*, 76, 1278-1286 (1997).
 17. National Research Council Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. (1994).
 18. Scot PIL training manual. Glasgow Univ, UK. (1994).
 19. B. Close, K. Banister, V. Baumans, E. M. Bernoth, N. Bromage, J. Bunyan, W. Erhardt, P. Flecknell, N. Gregory, H. Hackbarth, D. Morton, and C. Warwick, Recommendations for euthanasia of experimental animals, *Part 2. Laboratory animals*, 31, 1-32 (1997).
 20. W. F. Zhang, D. F. Li, W. Q. Lu, and G. F. Yi, Effects of isomalto oligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora, *Poult. Sci.*, 82, 657-663 (2003).
 21. SAS, SAS/STAT User's Guide: Statistics. *SAS Inst. Inc*, Cary, NC. (2004)
 22. R. E. Austic, Feeding poultry in hot and cold climates. Pages 123-136 in *Stress physiology in livestock*. Vol. 3. M. K. Yousef. ed. CRC press. Boca Raton. FL. (1985).
 23. P. A. Geraert, J. C. F. Padilha, and S. Guillaumin, Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chicks: Growth performance, body composition and energy retention, *Br. J. Nutr.*, 63, 1697-1702. (1996).
 24. Y. Guo, G. Zhang, J. Yuan, and W. Nie, Effect of source and level of magnesium and vitamin E on prevention of hepatic peroxidation and oxidative deterioration of broiler meat, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 107, 143-150 (2003).
 25. S. O. Park, J. Hwangbo, C. M. Ryu, J. S. Yoon, B. S. Park, H. K. Kang, O. S. Seo, H. S. Chae, H. C. Choi, Y. H. Choi, Effects of extreme heat stress and continuous lighting on growth performance and blood lipid in broiler chickens, *Korean J. Oil Chem*, In press (2013).
 26. M. Debut, C. Berri, E. Baeza, N. Sellier, C. Arnould, D. Guemene, N. Jehl, B. Boutten, Y. Jégo, C. Beaumont, and E. Le Bihan-Duval. Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions, *Poult. Sci.*, 82, 1829-1838 (2003).
 27. J. R. Bartlett, and M. O. Smith, Effect of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress, *Poult. Sci.*, 82, 1580-1588 (2003).
 28. S. Singh, H. Sodhi, and R. Kaur, Effects of dietary supplements of selenium, vitamin E or combination of the two on antibody response of broilers, *Br. Poult. Sci.*, 47, 714-719 (2006).
 29. P. D. Schley, and C. J. Field, The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics, *Br. J. Nutr.*, 87, S221-S230

- (2002).
30. S. O. Park, and B. S. Park, Effect of dietary inuloprebiotics on performance, serum immunoglobulin and caecal microflora in broiler chickens, *Kor. J. Organic Agric*, 17, 539–555 (2009).
 31. D. A. Higgins, Physical and chemical properties of fowl immunoglobulins, *The Vet. Bull*, 45, 139–154 (1975).
 32. J. Bienenstock, J. Gauldie, and D. Y. E. Perey Synthesis of IgG, IgA, IgM by chicken tissues: Immunofluorescent and ¹⁴C amino acid incorporation studies, *The J. Immun*, 111, 1112–1118 (1973).
 33. Y. W. Wang, C. J. Field, and J. S. Sim, Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks, *Poult. Sci*, 79, 1742–1748 (2000).
 34. B. Tizard, The avian antibody response, *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11, 2–14 (2002).
 35. S. Devaraj, S. Vega-Lopez, N. Kaul, F. Schonlau, P. Rohdewald, and I. Jialal, Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile, *Lipids*, 37, 931–934 (2002).
 36. G. R. Gibson, and X. Wang, Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides, *Food Microbiol*, 11, 491–498 (1994).
 37. G. R. Gibson, E. R. Bead, X. Wang, and J. H. Cummings, Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofluctose and inulin, *Gastroenterology*, 108, 975–982 (1995).
 38. J. Gong, R. J. Forster, H. Yu, J. R. Chambers, P. M. Sabour, R. Wheatcroft, and S. Chen, Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken ceca and comparison with bacteria in the cecal lumen, *FEMS Microbiol. Lett*, 208, 1–7 (2002).
 39. Z. R. Xu, C. H. Hu, and M. O. Wang, Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatole and indole by mixed populations of pig fecal bacteria, *J. Gen. Appl. Microbiol*, 48, 83–89 (2002).
 40. M. R. Shakibaie, K. A. Jalilzadeh, and S. M. Yamakanamardi, Horizontal transfer of antibiotic resistance gene among gram negative bacteria in sewage and lake water and influence of some physico-chemical parameters of water on conjugation process, *J. Environ. Biol*, 30, 45–49 (2009).