

급성기 반응중인 육계 병아리의 생산성에 미치는 사료 중 크릴 밀의 영향

고태송 · 임진택 · 박인경 · 김재환

건국대학교 축산대학 동물생명과학부

Effect of Dietary Krill Meal on the Performance of Broiler Chicks During the Acute Phase Response

T. S. Koh, J. T. Im, I. K. Park and J. H. Kim

Department of Animal Life Sciences, College of Animal Husbandry,

Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

ABSTRACT

The effect of dietary Antarctic krill(*Euphausia Superba*) meal on the performance of broiler chicks during the acute phase responses was studied. One d-old male broiler chicks(Avian) were fed on the experimental basal (0.0 % krill meal), and 0.5 and 1.0 % krill meal diets, and then the acute phase response were activated by injecting *Salmonella typhymurium* lipopolisaccharide(LPS) three times i. p. at 8, 10 and 12 day of age. The 1.0% krill meal diet group had reduced daily gain and feed efficiency during the acute phase response of the 2nd week of age, while during recovery from the acute phase response of the 3rd week of age the lowered performance disappeared. The acute phase response increased the relative weight of liver and spleen, and dietary krill meal enhanced the activities of MnSOD and Cu/ZnSOD in liver and erythrocyte cytosols during the acute phase response, although neither the acute phase response or dietary krill meal affected significantly PHA-p hypersensitivity. The results indicated that dietary krill meal affected the performance and SOD activity of broilers chicks during the acute phase response.

(Key words : Krill meal, Acute phase response, Performance, SOD, Broiler chicks)

I 서 론

동물이 감염원이나 LPS(lipopolysaccharide)에 노출되면 Monocyte/macrophage가 자극을 받아 면역원에 대한 특이적 및 비특이적 면역반응을 일으키고, 면역반응이 시작된 한시간 이내에 모든 조직과 대부분의 중간대사 과정이 조절되는 급성기반응(acute phase response)이 발생한다(Klasing, 1998). 이러한 염증반응은 사료 섭취량과 근육 축적량을 감소시키고, 대사율과 급성기 단백질 생 합성 및 체중대비 기

관 비율을 높인다(Klasing과 Korver 1997, Roura 등 1992).

포유류에서, 면역세포 인지질 막의 지방산 조성은, *in vitro*(Billar 등, 1988, Prescott, 1984) 또는 *in vivo*(German 등, 1987)에서의 면역반응 정도에 영향을 미친다. 면역세포 막에(n-6) 다가 불포화지방산(polyunsaturated fatty acids : PUFA) 대신에(n-3) PUFA를 강화하면 염증반응 완화 - 신호전달물질을 생산할 뿐만 아니라 양(量)도 낮아진다(Billar 등, 1988; Prescott, 1984). 어유 첨가 사료를 급여하면 사람(Schmidt, 등, 1991),

Corresponding author : T. S. Koh, Laboratory of Nutrition and Biotechnology, Department of Animal Life Sciences, Konkuk University, Gwanjin-gu, Seoul 143-701, Korea, Tel : 82-02-450-3698, Fax : 82-02-455-1044, E-mail : tskoh@konkuk.ac.kr.

쥐(Billar 등, 1988), 마우스(German 등, 1987; Whelan 등, 1991), 그리고 가금(Chanmugam 등, 1992, Friedman과 Sklan, 1995; Fritsche 등, 1991)의 조직에서(n-6) PUFA에 비해서(n-3) PUFA의 비율이 높아진다. 마우스에서 프로스타그란딘(prostaglandin E: PGE)과 류코트라이엔(leukotriene) 등 에이코사노이드(eicosanoids) 생합성은 사료중의(n-3) PUFA의 절대 농도보다(n-3):(n-6) PUFA 비율의 영향을 더 받는다(Boudrau 등, 1991; Broughton 등, 1991, German 등, 1988). 가금에서는 옥수수-소맥-대두박 사료에(n-3):(n-6) PUFA 비를 조정하여 0.07(가능한 가장 낮은 비율)에서 0.33으로 높였을 때 간장(n-3) PUFA가 가장 높았고(n-6) PUFA 농도가 가장 낮았다(Korver, 1997). (n-3):(n-6) PUFA비를 0.66 또는 1.00으로 올려도 간장의(n-3):(n-6) 비는 약간 높아졌다. 동물의 세포막에(n-3) PUFA의 강화는 염증반응을 완화하고, 성장율을 향상시키며, 그리고 특이 면역성이 증가시키거나 유지한다. 포유류의 사료에 어유를 첨가하면 체액성 면역을 증가하고 PGE2가 원인이 되는 세포성 면역반응의 억제를 완화하는 것 같다(Fritsche 등, 1992, Schmidt 등, 1991). 성장중인 백색 레그혼 병아리에 어유 유래의 n-3 지방산을 급여하면 양의 적혈구(SRBC)에 대한 항체반응을 억제하고 mitogen 자극후의 임파구 증식율은 억제하였다(Fritsche 등, 1991).

남빙양 크릴(antarctic krill : *Euphausia superba*)를 동물사료로 가공한 크릴 밀(수분 10.6%)에는 조지방이 12.4% 함유되고(Grantham, 1977), 이 중에서 PUFA가 40% 함유되며 이 중에서(n-3) PUFA인 eicosapentaenoic acid(EPA)가 18.4% 그리고 docosahexaenoic acid(DHA)가 11.1% (Cripps와 Atkinson, 1999)가 함유된다. 한편 크릴 밀의 높은 불소 함량은 동물실험결과에 부정적인 영향을 미친다(Siebert 등, 1982). 그리고 산란계 사료에 크릴 밀을 첨가 급여하면 1.0% 첨가에도 어취가 계란에 이전되어(고 등, 2001) 축산물 소비자의 기호성을 감소시킬 가능성이 있다.

본 연구는 사료 중에 크릴 밀이 소량 함유되

어도 크릴 밀중의 지방산이 면역담당세포의 세포막 인지질의 지방산 조성을 변화(Korver, 1997)시켜 면역 반응에 영향을 미칠 것이라는 가정을 세웠다. 따라서 소량의 크릴 밀이 단위 사료 소비량에 대한 성장율, 사료소비량, 증체량에 미치는 실험적 염증 반응의 부정적 영향을 완화 하는지를 평가하기 위하여 실시 되었다. 즉 LPS로 급성기 반응을 발생시킨 육계 병아리의 생산성과 면역 반응의 조정 기능에 미치는 크릴 밀중의 불소 함량의 영향이 없는 0.5%와 1.0% 크릴 밀이 함유된 사료의 영향을 조사하였다.

II 재료 및 방법

1. 실험재료, 설계 및 실험동물 사육

갯 부화한 육계 수평아리(Avian) 1 일령 부터 기초사료(크릴 밀 0.0%)와 기초사료중의 대두박 대신 0.5 또는 1.0 %의 시판 수입 크릴 밀을 각각 대치한 세 종류의 시험 사료(Table 1)로 각각 시험 사육 하였다. 사료와 물은 자유로 섭취 하도록 하였다. 기초사료는 옥수수와 대두박을 기초로 한 NRC(1994) 표준 실제사료와 거의 동일하다. 본 실험에 사용한 크릴 밀은 수분 10.8%, 조단백질 54.6%, 조지방 6.0%, 그리고 조회분이 9.7%를 함유하였다.

육계 병아리는 사료 처리당 8 마리씩 그리고 한 마리당 6 수씩 배분하여 144 수를 24개 마리에서 사육하였다. 실험사육 두번째 주인 8일령에는 각 사료 처리 구의 반(네 마리)에 *Salmonella typhimurium* lipopolysacchride(LPS)를 병아리 1 수당 3.0 mL씩 복강내 주입하여 급성기 반응을 발생시켰으며, 이에 대한 대조는 각 처리구의 반(네 마리)에 같은 양의 멸균 염수(Saline)를 복강내에 주입한 것이다. 따라서 실험 요인은 세 종류의 사료와 LPS 또는 Saline 주입의 $3 \times 2 = 6$ 요인에 요인당 4 반복이다. 면역원 LPS(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)는 염 용액(9 g/1000mL)에 100 µg/mL의 농도로 재 용해한 뒤에 0.45µm의 필터를 통과시켜 멸균하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Diets	Basal ¹⁾	Krill 0.5	Krill 1.0
Ingredients g/kg		
Ground yellow corn (8.8% protein)	576	576	576
Soybeanmeal (48.5% protein)	350	345	340
DL-Methionine	2.5	1.5	1.5
Soybean oil	30	30	30
Choline HCl(50%) (Iodized) Salt	1.5	1.5	1.5
CaCO ₃	5.0	5.0	5.0
CaHPO ₄ 2H ₂ O	10	10	10
Vitamin Mix ²⁾	20	20	20
Mineral Mix ³⁾	2.5	2.5	2.5
Krill meal	-	5.0	10.0
Analyzed chemical composition %		
Moisture	11.0	11.5	12.0
Crude protein	20.1	20.3	20.5
Crude fat	3.1	3.8	4.0
Crude fiber	2.7	2.7	2.7
Crude ash	6.3	6.5	6.7
Nitrogen-free extracts	55.8	55.7	54.1
Fluoride ppm	4.0	12	23
Analyzed fatty acid compositiong/100g fatty acid		
Linoleic acid(n-6)	50.0	45.4	45.0
Linolenic acid (n-3)	4.0	3.9	3.8
Eicosapentaenoic acid (n-3)	-	0.3	0.7
Docosahexaenoic acid(n-3)	-	0.2	0.3
n-3/n-6	0.08	0.10	0.11
Calculated Content %		
Lysine	1.10	1.20	1.40
Methionine + Cystine	0.90	0.90	0.99
MEn kcal/kg	3,109	3,127	3,110

¹⁾ NRC (1994).

²⁾ Vitamin mix contained the followings per kg diet : vitamin k 0.55mg, antioxidant 125mg, vitamin E 10IU, vitamin D₃ 400IU, vitamin A 1,500IU, biotin 0.15mg, folacin 0.55mg, pyridoxine HCl 3mg, niacin 25mg, calcium panthothenate 10mg, riboflavin 3.6mg, thiamin HCl 1.8mg.

³⁾ Mineral mix contained the followings per kg diet : MnSO₄ H₂O 170mg, ZnSO₄ H₂O 110mg, Ferric citrate 500mg, CuSO₄, 5H₂O 16mg, Na₂SeO₃ 0.2mg.

2. 체중 및 사료 섭취량과 시료채취

면역자극 실험사육이 시작되는 7 일령과 끝나는 두 번째 주말인 14 일령 그리고 면역자극 뒤 7 일간의 적응기간이 끝나는 21 일령의 체중이 각 우리별로 각각 측정되었다. 그리고 사료 섭취량은 매일 잔량을 기록하여 일당 사료 섭취량이 각각 기록 되었다. 면역자극이 끝나는 14 일령 병아리는 각 우리별로 병아리 1 수를 무작위로 뽑아 체중을 다시 측정한 다음 해파린 처리 주사기로 심장을 찢어서 혈액을 채취한 뒤 적출한 비장과 간장의 무게를 측정하였다.

3. 세포성 면역

면역자극에서 회복중인 21 일령 육계 병아리에서 피하 호염기 성세포 과민증을 이용하여 세포성 면역을 측정하였다(Corrier와 DeLoach, 1990). 각 우리에서 1 수씩 무작위로 취하여 처리당 4 수 총 24 수의 병아리 오른쪽 세 번째와 네 번째 발가락 사이에 phytohemagglutinin-p (PHA-p) 0.1 mL(100 µg)를, 그리고 대조로서 왼쪽 세 번째 및 네 번째 발가락 사이에 멸균 PBS를 각각 주입하였다. PHA-p는 인산 완충 염용액(PBS)(9g/1,000mL, pH 7.0)에 1,000µg/mL의 농도로 재 용해한 뒤에 0.45µm의 필터를 통과시켜 멸균하였다. 24시간 뒤에 오른쪽 및 왼쪽 발가락의 두께를 0.01mm까지 측정되는 digimatic caliper로 측정된 값으로 세포성 면역을 평가하였다. 세포성 면역는 PHA-p 또는 대조의 PBS를 주입하기 전의 두께를 100%로 하여 24시간 뒤의 두께가 붙는 정도를 지수로서 나타내었다.

4. 효소 활성

혈액을 원심분리하여 혈장을 분리하고 침전된 적혈구는 상층의 백혈구 층을 완전히 제거한 다음에 탈 이온수에서 냉동 및 해동으로 세포막을 파괴한 후 원심분리하여 적혈구세포액을 얻었다. 간장과 적혈구 세포액은 Manganese superoxide

dismutase(MnSOD)를 불활화하고(Prohaska, 1983), Copper/zinc superoxide dismutase(Cu/ZnSOD:EC 1.15.1.1) 활성을, 그리고 Cu/ZnSOD를 1mM KCN 으로 불활화 하고 MnSOD(EC 1.15.1.1) 활성을 Pyrogallol 자동산화 억제도를 평가하여 (Marklund와 Marklund, 1974) 각각 측정하였다. SOD 활성은 단백질(Lowry 등, 1954) mg당 단위(U)로 표시 하였다.

5. 통계처리

실험 데이터는 면역원과 크릴 사료급여의 2원 배치 분산분석을 SAS(SAS Institute, Cary, NC, 1990) 프로그램의 GLM 법으로 주효과 및 상호관계를 조사하였다. 주효과가 유의하면($p < 0.05$), 평균값 사이의 유의차는 SAS의 최소 유의차 값으로 검정 하였고, $p < 0.10$ 의 값은 경향을 나타내는 것으로 하였다.

III 결 과

1. 증체, 사료효율, 간장과 비장 무게

실험사육 2 주째 2 일에 한 번씩 3회 LPS를 병아리의 복강에 주입하여 발생된 급성기 반응 중인 2 주령 병아리의 증체량과 사료효율 및 간장과 비장무게에 미치는 크릴 밀 사료의 영향을 Table 2에 나타내었다. 급성기 반응중인 병아리의 일당 증체와 사료 섭취량은 실험사료

의 종류에 관계없이 Saline을 주입한 대조 구의 이들 값보다 낮았다. 한편 급성기 반응은 병아리의 일당 증체와 사료효율을, 대조 구의 이들 값에 비해서, 크릴 밀 1.0% 사료를 급여하면 유의하게($p < 0.05$) 낮추나, 기초사료와 크릴 밀 0.5% 사료를 급여하면 유의한 영향을 미치지 않았다.

급성기 반응이 없는 병아리(대조구)에서는 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료가 육계 병아리의 증체량과 사료효율을 크릴 밀 0.0%인 기초사료를 급여한 것 보다 감소시키는 경향이 있었으나, 사료 섭취량에는 이러한 경향이 나타나지 않았다.

육계 병아리의 체중 100g에 대한 간장과 비장 무게 비는 급성기 반응이 발생하면 실험 사료의 종류에 관계없이 대조 구의 이들 값에 비해서 커졌다($p < 0.05$). 한편 사료 중 크릴 밀 함량이 많을수록 육계 병아리의 간장과 비장 무게는 커지는 경향을 나타내었다.

2. SOD 활성과 PHA-p 반응

급성기 반응중인 육계 병아리의 간장과 적혈구 세포액의 MnSOD 및 Cu/ZnSOD 활성과 PHA-p 과민증에 미치는 사료중 크릴 밀의 영향을 Table 3에 나타내었다. 크릴 밀 사료나 면역반응이 간장과 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성에 미치는 영향은 유의하지 않았다. 그러나 급성기 반응은 크릴 밀 사료를 급여한 병아리에서는, 적혈구 세포액의 MnSOD

Table 2. Effect of dietary krill meal on daily gain, feed intake, feed efficiency, and liver and spleen weight of broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide

Krill meal Immunization	0.0 %		0.5%		1.0 %		Pooled SEM
	Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS	
Gain g/b/d	22.7 ^a	21.6 ^{ab}	20.3 ^{ab}	19.9 ^{ab}	20.6 ^{ab}	15.9 ^{b*}	0.65
FI g/b/d	44.8	41.3	41.5	39.9	44.4	42.6	0.94
FE Gain/FI	0.507 ^{ab}	0.523 ^a	0.489 ^{ab}	0.499 ^{ab}	0.464 ^{ab}	0.373 ^{b*}	0.018
Liver g/100g BW	3.84 ^b	4.25 ^{ab*}	3.84 ^b	3.92 ^b	4.22 ^{ab}	4.54 ^a	0.104
Spleen g/100g BW	0.079	0.109	0.099	0.124	0.099	0.113	0.0100

Values are means of 4 replicates, BW : Body Weight, Pooled SEM: Pooled standard error of mean, FI : feed intake, FE : feed efficiency, Saline : Saline injected i.p., LPS : *S. typhimurium* lipopolysaccharide injected i.p. ^{a-b} : Means in a row without common superscript, and * : means between Saline and LPS in a row differ significantly at $p < 0.05$.

Table 3. Effect of dietary krill meal on the SOD activity in the cytosols of liver and erythrocytes, and the PHA-p hypersensitivity of broilers sensitized with the LPS

Krill meal Immunization		0.0 %		0.5%		1.0 %		Pooled SEM
		Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS	
Liver	MnSOD	0.98 ^{ab}	0.95 ^{ab}	1.05 ^a	0.98 ^{ab}	0.73 ^b	0.95 ^{ab*}	0.026
	Cu/ZnSOD	7.66 ^b	8.33 ^{ab}	9.75 ^a	7.70 ^{b*}	8.06 ^b	8.23 ^{ab}	0.30
Erythrocyte	MnSOD	5.07	4.79 [*]	4.84	5.27	5.42	5.57	0.17
	Cu/ZnSOD	0.83 ^{ab}	0.75 ^{b*}	0.80 ^{ab}	0.84 ^{ab}	0.81 ^{ab}	0.87 ^a	0.020
PHA-p	%	139.9	149.3	136.2	136.0	128.9	142.8	4.63

Values are average 4 replicates; Pooled SEM : Pooled standard error of mean.

Saline : Saline injected i.p.; LPS : *S. typhimurium* lipopolysaccharide injected i.p.; MnSOD: manganese superoxide dismutase; Cu/ZnSOD: copper/zinc superoxide dismutase.

PHA-p: % index of thickness in footpad 24 hr after phytohemagglutinin-p injected to PBS injected.

^{a-b} : Means in a row without common superscript, and * : means between Saline and LPS in a row differ significantly at p<0.05.

Table 4. Effect of dietary krill meal on the performance of broilers in the 3rd week of age after immune response during the 2nd week of age

Krill meal Immunization		0.0 %		0.5%		1.0 %		Pooled SEM
		Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS	
Gain	g/b/d	31.4 ^a	24.8 ^{b*}	25.2 ^b	23.6 ^b	25.3 ^b	25.0 ^b	1.05
FI	g/b/d	56.0	56.1	56.6	54.5	56.3	56.0	0.56
FE	Gain/FI	0.561 ^a	0.442 ^{b*}	0.445 ^b	0.433 ^b	0.449 ^b	0.446 ^b	1.86

Values are means of 4 replicates; BW : Body Weight, Pooled SEM : Pooled standard error of mean; FI : feed intake, FE : feed efficiency, Saline : Saline injected i.p.; LPS : *S. typhimurium* lipopolysaccharide injected i.p.;

^{a-b} : Means in a row without common superscript, and * : means between Saline and LPS in a row differ significantly at p<0.05.

와 Cu/ZnSOD 활성을 대조구의 이들 값에 비해서 높이는 경향을 나타내었다. 한편, 기초사료를 급여한 병아리에서는 급성기 반응이 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 유의하게(p < 0.05) 감소시켜 기초사료와 크릴 밀 사료 사이에 다른 경향을 보였다. 이것은 크릴 밀 사료는 급성기 반응중의 적혈구 세포액중의 SOD 활성을 높이고 있다는 것을 나타내었다.

3. 세포성 면역

급성기 반응에서 회복중인 21 일령 육계 병아리의 세 번째와 네 번째 발가락 사이에 PHA-p 주입 24시간 뒤에 발가락사이가 붓는 정도를 측정된 PHA-p 과민증은 급성기 반응

을 경험한 병아리에서는 기초사료와 크릴 밀 1.0% 사료를 급여하면 대조구보다 높아지는 경향을 보였다. 대조 구의 병아리 중에서는 사료 중 크릴 밀 함량이 높아짐에 따라 PHA-p 과민 반응은 낮아지는 경향을 나타내었다.

4. LPS 면역반응 자극 후의 보상 성장

급성기 반응 후의 병아리의 적응성에 미치는 크릴 밀 사료의 영향을 관찰하기 위하여, 급성기 반응 자극 후 1주간 더 사육한 3 주령 병아리의 성장율과 사료효율에 미치는 크릴 밀 사료의 영향을 Table 4에 나타내었다. 급성기 반응을 경험한 병아리의 일당 증체량과 사료효율은, Saline 주입 경험이 있는 대조구의 이들 값

과 비교하면, 크릴 밀 사료를 급여한 병아리에서는 유의차가 없었으나, 크릴 밀 0.0%인 기초 사료를 급여한 것에서는 유의하게($p < 0.05$) 낮았다. 대조구 병아리의 일당 증체량($p < 0.05$)과 사료효율은 크릴 밀 사료를 급여한 것에서 기초 사료를 급여한 것 보다 낮았다. 그러나 사료 섭취량은 실험사료 사이에 차이가 없었다. 3 주령 대조병아리의 증체량과 사료효율에 미치는 크릴 밀 사료의 영향은 2 주령의 병아리의 그것과 일치하였다.

IV 고 찰

1. 성장, 사료섭취량, 사료효율

육계 병아리에 LPS(Koh 등, 1996, 2001)나 사멸 *Staphylococcus aureus*(Klasing과 Banes, 1988) 또는 sheep red blood cell(SRBC) (Klasing 등, 1987)의 주입으로 급성기 반응을 발생시키면 면역원의 종류와는 상관없이 성장율과 사료 섭취량이 저하 한다는 것은 잘 알려져 있다. 본 연구에서도 실험사료에 관계없이 면역반응중인 병아리의 증체량과 사료섭취량이 감소하였다. 사료중 어유는 *S. typhimurium* LPS에 의한 급성기 반응시의 성장 억제효과를 완화하고 체중을 증가 시킨다(Korver와 Klasing, 1997). 그러나 본 연구의 급성기 반응시에 크릴 밀 1.0 % 사료를 급여한 병아리의 일당 증체와 사료효율은 기초사료를 급여한 것의 이 값들 보다 유의하게 낮아서 어유 급여 효과와 일치하지 않았다. 이러한 결과는 크릴 밀 중의(n-3) PUFA에 의한 면역세포의 인지질 막의 지방산 조성(Friedman and Sklan, 1995)의 변화가 없기 때문에, 염증반응을 완화하는 신호전달 물질인 에이코사노이드 생산(Boudreau 등, 1991)에 영향을 미치지 않았다는 것을 나타 낼런지도 모른다.

크릴 밀 1.0% 사료를 급여한 것에서, 급성기 반응을 경험한 3주령 병아리(Table 4)와 대조군의 성장율과 사료 효율은 비슷해졌다. 이와 같이 3 주령 병아리의 성장율과 사료 효율에 미치는 크릴 밀사료의 영향은 2 주령 병아리 그것과 달랐다. 그러나, 기초사료를 급여한 것에서는 면

역반응의 영향이 계속되어 3 주령에도 대조에 비해서 유의하게 낮아지고 있다. 따라서 크릴 밀 1.0% 사료에서 3 주령 병아리의 높은 성장율은 크릴 밀 급여기간이 길어짐에 따라 면역세포의 인지질막의 지방산 조성(Friedman과 Sklan, 1995)이 변하여 급성기 반응으로 발생한 부작용을 완화하는 것이 그 원인중의 하나가 될 수 있을 것이다. 한편 대조 병아리에서 크릴 밀 사료는 기초사료에 비해서 병아리의 일당 증체와 사료효율을 낮추는 경향이 있었다. Siebert 등(1982)은 크릴 밀 사료의 동물 생산성을 낮추는 부정적인 영향은 크릴 밀의 높은 불소 함량에 의한 독성을 그 원인중의 하나로 제시 하였다. Berg 와 Martinson(1972)은 성장중인 병아리 사료에 불소화소다(NaF)로서 불소가 750 ppm 이상 함유되면 체중이 감소하는 것을 관찰하였다. 본연구실에서 Fluoride electrode(Orion Model 96-09, Cumming Center, Beverly, MA, USA)로 측정된 크릴 밀 0.5 또는 1.0% 사료중의 불소 함량은 각 12ppm과 23ppm으로 Berg와 Martinson (1972)의 실험과 비교하면 독성이 염려되지 않은 적은 양이다. 건조한 크릴 밀 중의 불소 함량(Hempel과 Mathey, 1981)은 1,588ppm으로, 이 값은 사료중 불소 허용량(EEC, 1973)의 네 배가 넘는다. 그러나 Hempel과 Mathey(1981)가 발표한 크릴 밀내 함유 불소 량으로 부터 계산하면 크릴 밀 0.5% 사료에는 불소가 8 ppm 그리고 크릴 밀 1.0% 사료에는 16 ppm이 함유된다. 따라서 본 연구에서 크릴 밀 사료 급여와 급성기 반응 중에 성장이 저하하는 원인은 불소 함량 보다는 다른 원인일 가능성이 높은 것 같다.

2. 간장 및 비장 무게

Roura 등(1992) 및 Koh 등(2001)은 *S. typhimurium* LPS 주입으로 발생한 급성기 반응중인 육계 병아리의 간장과 비장의 상대적인 무게가 무거워 진다고 하였다. 본 연구에서도 급성기 반응은 병아리의 간장과 비장 무게를 증가 시켰다. 급성기 반응시에는 숙주 보호를 위해서 간장에서 급성기 단백질의 합성이 증가하며 급성기 단백질의 합성을 위한 영양소 이용이 많아지는

결과 간장 무게가 무거워진다(Klasing, 1998). 그리고 급성기 반응시의 비장 무게는 비장내 면역 세포의 증식(Opera 등, 2000)이 증가하는 결과 무거워진다. 비장은 부화 시에는 아직 성숙되지 않은(Schat와 Myers, 1991) 이차 면역기관으로 부화 후 일주일간의 영양은 비장 발육과 면역계통의 형성에 중요한 영향을 미친다. 한편 비장 발육은 기본 면역기관인 bursa나 thymus에 의존한다(Glick, 1997). 따라서 부화 후 2주간의 크릴 밀 사료 급여로 비장 무게가 무거워진 것은 bursa나 thymus의 세포막 인지질의 지방산 조성(Friedman과 Sklan, 1995)을 변화시켜 신호전달 물질의 분비가 크릴 밀 사료 급여의 영향이 있다는 것을 나타낸다. 그러나 크릴 밀의 성분 또는 이로 인해 생성된 신호물질 분비가 비장 또는 간장무게에 미치는 원인에 대해서는 실험이 더 필요할 것이다.

3. SOD 활성

크릴 밀 사료 급여시 급성기 반응은 육계 병아리의 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 높이는 경향이 있었다. 숙주가 LPS에 노출되면 Monocyte(모노사이트)가 Macrophage(마크로파지)로의 분화가 촉진되고 활성화된 Monocyte/macrophage는 숙주방어 신호를 더 강력히 분비하여 숙주의 생리적, 면역학적, 대사적 및 행동적인 변화 등 염증 반응의 진행에 중심적인 역할을 한다(Klasing, 1998). 마크로파지와 모노사이트가 활성화 하면 슈퍼옥사이드 음이온(O₂⁻), hydroxyl radical(OH*), 단일산소원소(¹O₂), 과산화수소(H₂O₂), 산화질소(NO)와 과산화아질산(peroxynitrite : ONOO⁻) 등 반응성 자유기를 생산한다(Zhao 등., 1998). Superoxide dismutase (SOD: 슈퍼옥사이드 이성화효소) (EC 1.15.1.1)는 슈퍼옥사이드 음이온(O₂⁻)을 산소(O₂)와 과산화수소(H₂O₂)로 이성화 반응을 촉매한다(McCord와 Fridovich, 1969).



이와 같이 SOD는 반응성 산소군(reactive oxygen species : ROS)를 H₂O₂로 전환하는 반응

을 촉매하여 ROS 등 반응성 자유기로부터 정상적인 세포를 보호한다. 포유류에서 Cu/ZnSOD, MnSOD 및 세포외액 SOD 등 세 가지가 발견되었다(Weisiger와 Fridovich, 1973). Cu/ZnSOD와 세포외액 SOD는 각각 세포액과 세포외액에 그리고 MnSOD는 미토콘드리아 matrix에 위치한다(Weisiger와 Fridovich, 1973).

크릴 밀 사료를 급여한 육계 병아리의 급성기 반응중에 적혈구 세포액의 MnSOD와 CuSOD 활성이 높아지는 것은 혈액 중에 과산화물질 등 적혈구 내 SOD의 활성을 유도하는 물질이 생성되고 있다는 것을 뜻한다. Surai 등(1999)은 조직중 PUFA 함량이 높아지면 산화반응을 조절하기 위하여 SOD와 같은 항산화 효소의 활성이 높아진다고 하였다. 본 연구에서 면역반응중인 병아리에서 크릴 밀 사료 급여시에 SOD 활성이 높아지는 것은 크릴 밀 중의 PUFA가 적혈구 조직에 함유되므로서 SOD의 항산화 반응과 관계가 있는 것 같다. 크릴 밀 2.0% 사료를 육계 병아리에 급여했을때(박 등, 2004) 그리고 어유 1.0% 함유 사료를 급여했을때(Koh 등, 2004) 급성기 반응은 간장과 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 증가시켜 본 연구와 일치하였다. 크릴 밀 2.0% 사료와 어유 1.0% 사료 급여시는 더 많은 어유가 조직내에 들어 갈 것이므로 박 등(2004) 및 Koh 등(2004)의 연구는 상기 가정을 뒷받침 한다고 생각되었다. 한편 동 결핍 반정제 사료를 급여한 육계 병아리에서(Koh 등, 1996)는 급성기 반응이 SOD 활성에 영향을 미치지 않았다. 쥐에서도 SOD 활성은 염증반응으로 여러 가지 조직에서 유도되어 중요한 방어적인 역할을 한다(Visner 등, 1990)고 하여 본 성과 일치 하였다. 그러나 크릴 밀 사료중에 함유된 어떤 성분이 적혈구 SOD의 활성에 영향을 미치고 있는지는 실험이 더 진행되어야 확인할 수 있을 것이다.

4. 세포성 면역

육계의 세 번째와 네 번째 발가락 사이에 PHA-p를 주입하여 24시간 뒤의 발가락사이가 붓는 정도를 캘리버로 측정된 값은 피부 호염

기구 과민증(cutaneous basophil hypersensitivity)으로 흥선세포(T-세포) 의존 반응(Edelman 등., 1985)이다. 이러한 세포성 면역는 흥선에서 유도된 T 임파구의 항원 인식성을 나타낸다. 급성기 반응을 경험한 병아리는 기초사료와 크릴 밀 1.0% 사료를 급여하면 PHA-p 과민증(Table 3)이 면역반응을 경험하지 않은 대조구 보다 높아지는 경향을 보였다. 대조구의 병아리들 중에서는 PHA-p 과민 반응은 사료중 크릴 밀 함량이 높아짐에 따라 낮아지는 경향을 나타내었다. 본 성적은 사료중 크릴 밀 함량이 높아짐에 따라 PHA-p를 주입한 국부에서의 T-세포 증식이 낮아진다는 것을 의미하고 있다. 이것은 크릴 밀에 함유된 PUFA에 의해서 면역세포의 지방산 조성을 변화 시켜서(Boudreau, 1991; Korver, 1997) 면역 반응을 변화 시키는 증거라고 생각된다. 본 연구에서 PHA-p 반응의 측정에 사용한 병아리 수가 한 우리당 1 수이나, 나타난 경향을 보면 측정회수(병아리 수)가 많아지면 통계적인 평가가 가능하다는 것을 나타내고 있다.

이상과 같이 급성기 반응중인 병아리에서는 0.5%와 1.0% 크릴 밀 사료 급여로 증체량과 사료 섭취량이 낮아졌으며, 간장과 비장 무게가 무거워 졌고 적혈구 세포액의 SOD 활성이 높아졌으며, PHA-p 과민증이 크릴 밀 1.0% 사료에서 높아졌다. 이러한 성적은 크릴 밀에 함유된 PUFA가 면역세포의 세포막 인지질의 지방산 조성에 영향(German, 1987; Korver, 1997, Koh 등 2004)을 미치므로서 나타나는 결과라고 생각 되었다. 그러나 크릴 밀 중의 어떤 성분이 급성기 반응중의 증체량, 간장과 비장무게 그리고 SOD 활성과 관련이 있는지에 대해서는 더 많은 실험이 필요하다고 생각된다.

V 요 약

급성기 반응중인 육계 병아리의 생산성에 미치는 크릴 밀 사료 급여의 영향이 조사되었다. 육계 병아리 1 일령 부터 크릴 밀 0.0 %(기초), 0.5% 및 1.0% 함유 실험사료를 급여하고, 2 주령인 8, 10 및 12 일령에 3회에 걸쳐 *Salmo-*

nella typhymurium lipopolysaccharide(LPS)를 복강 내 주입하여 발생된 급성기 반응시의 생산성과 SOD 활성을 Saline을 주입한 대조와 비교하였다. 크릴 밀 1.0% 사료를 급여한 육계에서 급성기 반응은 증체량과 사료 효율을 유의하게 ($p < 0.05$) 감소 시켰으나, 급성기 반응에서 회복중인 3 주령 병아리의 증체량과 사료 효율은 대조군과 차이가 없었다. 급성기 반응은 간장과 비장무게를 무겁게 하였고, 크릴 밀 사료를 급여한 병아리의 적혈구 세포액 MnSOD 와 Cu/ZnSOD 활성을 높이는 경향을 보였으나, PHA-p 과민증은 크릴 밀 사료 급여나 면역반응의 영향이 없었다. 본 성적은 부화 후 2주간 의 크릴 밀 급여가 급성기 반응중의 생산성과 SOD 활성에 영향을 미친다는 것을 나타내었다.

주요어 : 크릴 밀, 급성기반응, 생산성, SOD, 육계.

VI 사 사

본 연구는 2001년 한국과학재단과 (주) 인성실업의 산학협력연구 지원으로 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사 드립니다.

VII 인용 문헌

- 1 Berg, L. R. and Martinson, R. D. 1972. Effect of diet composition of the toxicity of zinc for the chick., Poultry Sci., 51(5):1690-1694.
- 2 Billar, T. R., Bankey, P. E., Svingen, B. A., Curran, R. D., West, M. A., Holman, R. T., Simmons, R. L. and Cerra, F. B. 1988. Fatty acid intake and Kupffer cell function : fish oil alters eicosanoids and monokine production to endotoxin stimulation. Surgery 104:343-349.
- 3 Boudreau, M. D., Chanmugan, P. S., Hart, S. B., Lee, S. H. and Hwang, D. H. 1991. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in suppressing eicosanoids biosynthesis from arachidonic acid. Am. J. Clin. Nutr. 54:111-117.
- 4 Broughton, K. S., Whelan, J., Hardardottir, I. and Kinsella, J. E. 1991. Effect of increasing the dietary (n-3) to (n-6) polyunsaturated fatty acid ration on murine liver and peritoneal cell fatty acids and eicosanoid formation. J. Nutr. 121:155-164.

5. Chanmugam, P., Bordreau, M., Boutte, T., Park, R. S., Hebert, J., Berrio, L. and Hwang, D. H. 1992. Incorporation of different types of n-3 fatty acids into tissue lipids of poultry. *Poultry Sci.* 71:516-521.
6. Corrier, D. E. and DeLoach, J. R. 1990. Evaluation of cell-mediated cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poultry Sci.*, 69:403-408.
7. Cripps, G. and Atkinson, A. 1999. The fatty acid signature of carnivorous Antarctic krill, *Euphausia superba*. Proceedings, The Second International Symposium on Krill, 23-27. August 1999, University of California Santa Cruz.
8. Edelman, A. S., Sanchez, P. L., Robinson, M. E., Hochwald, G. M. and Thorbecke, G. J. 1985. Primary and secondary wattle swelling response to phytohemagglutinin as a measure of immunocompetence in chicken. *Avian Dis.* 30:105-111.
9. EEC. 1973. On the fixing of maximum permitted levels of undesirable substances and products in feeding stuffs. Council Directive of 17th December 1973. *Off. J. Eur. Commun.*, L38/31.
10. Friedman, A. and Sklan, D. 1995. Effect of dietary fatty acids on antibody production and fatty acid composition of lymphoid organs in broiler chicks. *Poultry Sci.* 74:1463-1469.
11. Fritsche, K. L., Cassity, N. A. and Huang, S. C. 1991. Effect of dietary fats on the fatty acid compositions of serum and immune tissues in chickens. *Poultry Sci.* 70:1213-1222.
12. Fritche, K. L., Cassity, N. A. and Huang, S. C. 1992. Dietary(n-3) fatty acid and vitamin E interactions in rats : effects on vitamin E status, immune cell prostaglandin E production and primary antibody response. *J. Nutr.* 122:1009-1018.
13. German, J. B., Lokesh, B. and Kinsella, J. E. 1987. Modulation of zymosan stimulated leukotriene release by dietary unsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukotrienes Med.* 30:69-76.
14. German, J. B., Lokesh, B. and Kinsella, J. E. 1988. The effect of dietary fish oils on eicosanoid biosynthesis in peritoneal macrophages is influenced by both dietary n-6 polyunsaturated fatty acids and total dietary fat. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids* 34:37-45.
15. Glick, B. 1997. The bursa of Fabricius and immunoglobulin synthesis. *Intl. Rev. Cytol.* 48:345-402.
16. Grantham, G. J. 1977. The utilization of krill. Southern Ocean Fisheries Survey Programme, Rome, FAO, GLO/SO/77/3:61p.
17. Hempel, G. and Manthey, M. 1981. On the fluoride content of larval krill. *Rep. Mar. Res.*, 29: 60-63.
18. Klasing, K. C. 1998. Avian macrophages: Regulator of local and systemic immune responses. *Poultry Sci.* 77:983-989.
19. Klasing, K. C., Laurin, D. E., Peng, R. K. and Fry, D. M. 1987. Immunologically mediated growth depression in chicks: Influence of feed intake, corticosterone and interleukin-1. *J. Nutr.* 117:1629-1637.
20. Klasing, K. C. and Barnes, D. M. 1988. Decreased amino acid requirement of growing chicks due to immunologic stress. *J. Nutr.* 118:1158-1164.
21. Klasing, K. C. and Korver, D. R. 1997. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. *J. Anim. Sci.*, 75(suppl. 2):58-67.
22. Koh, T. S., Peng, R. K. and Klasing, K. C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poultry. Sci.* 75(7):867-872.
23. Koh, T. S., Koo, U. S., Im, J. T. and Lee, S. I. 2001. Squid liver oil modulate immunological stress in broiler chicks. *Animal Resources Research Center, Konkuk University.* 22:59-69.
24. Koh, T. S., Im, J. T., Park, I. K. and Lee, S. I. 2004. Dietary fish oil alters energy metabolism and anti-oxidant enzyme activity during acute phase response. *PSA, Atlanta Abstract.*
25. Korver, D. R. 1997. Modulation of the growth suppressing effects of inflammation by the use of dietary fatty acids. Ph.D. dissertation, University of California, Davis, CA.
26. Korver, D. R. and Klasing, K. C. 1997. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune response in chicks. *J. Nutr.* 127:2039-2046.
27. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1954. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
28. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47:469-474.
29. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyte (hemocuperin). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
30. NRC, 1994. National Research Council, Nutrient Requirement of Poultry, 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, D.C.
31. Opera, M., Nimwegen, E. Van. and Perelson, A. S. 2000. Dynamics of one-pass germinal center models: Implications for affinity maturation. *Bulletin of Math. Bio.* 62:121-153.
32. Prescott, S. M. 1984. The effect of eicosapentaenoic acid on leukotriene B production by human neutrophils. *J. Biol. Chem.* 259:7615-7621.

33. Prohaska, J. R. 1983. Changes in tissue growth, concentration of copper, iron, cytochrome oxidase and superoxide dismutase subsequent to dietary or genetic copper deficiency in mice. *J. Nutr.* 113: 2148-2158.
 34. Roura, E., Homedes, J. and Klasing, K. C. 1992. Prevention of immunologic stress contributes to the growth-permitting ability of dietary antibiotics in chicks. *J. Nutr.* 122:2383-2390.
 35. SAS, 1990. SAS User's Guide, Statistics Version 6 Ed. SAS Institute Inc., NC, USA.
 36. Schmidt, E. B., Pedersen, J. O., Varming, K., Ernst, E., Jersild, C., Grunnert, N. and Dyerberg, J. 1991. n-3 fatty acids and leukocyte chemotaxis. Effects in hyperlipidemia and dose-response studies in healthy men. *Arteriosclerosis Thrombosis* 11: 429-435.
 37. Schat, K. A. and Myers, T. J. 1991. Avian intestinal immunity. *Crit. Rev. Poultry Biol.* 34: 19-34.
 38. Siebert, G. 1982. Fütterungstudie mit krill an Ratten unter besonderer Berücksichtigung von Fluorid. *Arch. Fischereiwiss.* 32(12):43-57.
 39. Surai, R. F., Speake, B. K., Noble, R. C. and Sparks, N. H. C. 1999. Tissue-specific antioxidant profiles and susceptibility to lipid peroxidation of the newly hatched chick. *Biological Trace Element Research* 68:63-78.
 40. Visner, G. A., Dougall, W. C., Wilson, J. M., Burr, I. A. and Nick, H. S. 1990. Regulation of manganese superoxide dismutase by lipopolysaccharide, interleukin-1, and tumor necrosis factor. role in the acute inflammatory response. *J. Biol. Chem.* 265: 2856-2864.
 41. Weisiger, R. A. and Fridovich, I. 1973. Superoxide dismutase. Organelle specificity. *J. Biol. Chem.* 248:3582-3592.
 42. Whelan, J., Brogton, K. S. and Kinsella, J. E. 1991. The comparative effects of dietary α -linolenic acid and fish oil on 4-and 5-series leukotriene formation *in vivo*. *Lipids* 216:119-126.
 43. Zhao, W., Han, Y., Zhao, B., Horota, S., Hou, J. and Xin, W. 1998. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta* 1381:77-88.
 44. 박인경, 김재환, 임진택, 고태송. 2004. 급성기 반응증인 육계의 생산성과 SOD 활성에 미치는 크릴 밀 사료의 영향. *한국동물자원과학회지* 46(2): 183-192.
 45. 고태송, 박인경, 임진택, 이성일. 2001. 산란계 사료 중 크릴 밀이 생산성에 미치는 영향. *한국동물자원과학회. 진주 학술 발표회*, 6월 28-29일, p 149.
- (접수일자 : 2004. 10. 23. / 채택일자 : 2004. 2. 18.)