

# 사료 중 크릴 밀을 급여한 육계의 생산성과 SOD 활성화에 미치는 급성기 반응의 영향

박인경 · 김재환 · 임진택 · 고태송

건국대학교 축산대학 동물생명과학부

## Effect of the Acute Phase Response on the Performance and Superoxide Dismutase Activity in Broiler Chicks Fed on Dietary Krill Meal

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

Department of Animal Life Sciences, Laboratory of Nutrition and Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

### ABSTRACT

Two experiments were conducted to examine the effects of the acute phase response on the performance and superoxide dismutase(SOD) activities in liver and erythrocyte of broiler chicks fed dietary krill meals A and B in experiment 1 and krill meal A in experiment 2. The experimental diets are basal diet based on yellow corn and soybean meal and diets substituted 2.0% of krill meal A or B with soybean meal of the basal diet, respectively. Day-old birds fed on the experimental diets and the acute phase response(immunological stress) was activated in the birds on 8-day of age by alternate day injection i.p. with 3 doses the *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide(LPS) in saline. The values during the acute phase response were compared with those controls injected with saline. The performance; daily gain, feed intake, and feed efficiency were different between dietary krill meal A and B in birds during the acute phase response and in the control. The acute phase response increased relative liver and spleen weights. Recovery of birds from the immunological stress was different between krill meals. Dietary krill meals increased activities of MnSOD and Cu/ZnSOD in erythrocyte cytosols during the acute phase response. Dietary krill meals did not affect the PHA-p response. The results indicated that the dietary krill meals may accentuate oxidative stress during the acute phase response.

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

### I 서 론

동물에 노출된 감염원이나 LPS(lipopolysaccharide) 등 면역원은 Monocyte/macrophage를 활성화하고(Xie 등, 2000), 면역원에 대한 특이적 및 비 특이적 면역반응을 일으킨다. 이러한 반응은 시작 한 시간 이내에 모든 조직과 대부분의 중

간 대사 과정을 조절하는 급성기 반응(acute phase response)을 활성화 한다(Klasing, 1998). 급성 기 반응은 사료 섭취량, 근육 축적량 및 성장율을 감소시키고, 급성 기 단백질 생 합성 및 체중대비 기관 비율을 높인다(Klasing과 Korver 1997, Roura 등 1992). 활성화한 마크로파지와 모노사이트는 슈퍼옥사이드 음이온(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),

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

hydroxyl radical(OH\*), 단일산소원소( $^1O_2$ ), 산화질소(NO)와 과산화아질산(peroxynitrite : ONOO<sup>-</sup>) 등 반응성 자유기를 생산한다(Zhao 등., 1998). Superoxide dismutase(SOD : 슈퍼옥사이드이성화 효소) (EC 1.15.1.1)는 슈퍼옥사이드 음이온( $O_2^-$ )을 산소( $O_2$ )와 과산화수소( $H_2O_2$ )로의 이성화 반응을 촉매(McCord와 Fridovich, 1969)하여 반응성 산소군(reactive oxygen species : ROS) 등 반응성자유기로부터 정상적인 세포를 보호한다. 사료 중 다가 불포화지방산(polyunsaturated fatty acid : PUFA)는 병아리에서 특이적 및 비 특이적 면역반응을 변화시킨다(Korver와 Klasing, 1997). 동물사료 용 남빙양 크릴(*Euphausia superba*) 밀(krill meal)에 함유된 지방에는 PUFA가 40% 들어있고, 이 중에서 에이코사펜타엔산(eicosapentaenoic acid : EPA)이 18.4% 그리고 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid : DHA)이 11.1%가 된다(Cripps와 Atkinson, 1999). 면역 반응시 크릴 밀(시판 수입) 급여는 육계의 생산성을 감소시키고 적혈구의 항산화 효소(SOD)의 활성을 증가시킨다(고 등, 2004). 이러한 생산성 저하와 SOD 활성 증가는 크릴 밀 제품의 종류의 차이에 기인한 것이라는 가정을 세웠다. 따라서 본 연구는 시판(수입) 두 종류의 크릴 밀이 함유된 사료가 LPS 주입에 의한 급성기 반응시의 육계의 생산성과 간장과 적혈구의 SOD 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

## II 재료 및 방법

### 1. 실험설계 및 실험동물 사육

본 연구에서는 크릴 밀 A와 크릴 밀 B를 이용한 실험 1과 크릴 밀 A의 효과를 재확인하는 실험 2가 실시되었다. 본 실험에 사용한 크릴 밀 A(시판 수입)는 수분이 9.1%, 조 단백질 54.7%, 조 지방 16.6%, 조 회분이 13.7%, 그리고 크릴 밀 B(시판 수입)는 수분이 3.5%, 조 단백질 54.6%, 조 지방 13.7% 그리고 회분 15.4% 함유하였다.

### (1) 실험 1

갯 부화한 육계 수평아리(Avian) 1일령 부터 Table 1의 기초사료(크릴 밀 0.0%)와 기초사료 중의 대두 박 2.0 % 대신 시중 구입 수입 크릴 밀 A와 크릴 밀 B를 각각 대치한 세 종류의 시험 사료로 시험 사육하였고, 사료와 물은 항상 급여하였다. 사료 당 8 마리씩 그리고 한 마리 당 6수씩 배분하여 144수를 24개 마리에서 사육하였다. 실험사육 두 번째 주인 8일령 부터 멸균 lipopolysacchride(LPS) 염 용액 1수당 3.0mL을 2일에 1회 씩 3회 복강 내 주입하여 면역 자극하였다. 대조는 같은 양의 멸균 염수(Saline)를 동일한 회수로 복강 내에 주입한 것이다. 실험 1의 요인은 3 사료와 LPS 주입과 Saline 주입의  $3 \times 2 = 6$  요인에 요인 당 4 반복이다. 면역자극 실험사육이 끝나는 두 번째 주말인 14일령에 7일간의 실험사육기간 및 21일령인 면역 자극 뒤 7일 간의 회복기간을 통한 사료 섭취량과 체중이 각각 기록되었다. 매일 사료급여량과 잔량을 기록하여 사료 섭취량을 계산하였다. 면역자극이 끝나는 14일령

Table 1. The composition of basal diet(NRC 1994)

Ingredients	g/kg
Ground yellow corn (8.8% protein)	576
Soybean meal (48.5% protein)	350
DL-Methionine	2.5
Soybean oil	30
Choline HCl(50%)	1.5
Salt	5.0
CaCO <sub>3</sub>	10
CaHPO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	20
Vitamin Mix <sup>1)</sup>	2.5
Mineral Mix <sup>2)</sup>	2.5
Total	1,000g

<sup>1)</sup> Vitamin mix contain in kg diet Vitamin K 0.55mg, Antioxidant 125mg, Vitamin E 10IU, Vitamin D3 400IU, Vitamin A 1,500IU, Biotin 0.15mg, Folicin 0.55mg, Pyridoxine HCl 3mg, Niacin 25mg, Calcium panthothenate 10mg, Riboflavin 3.6mg, Thiamin HCl 1.8mg.

<sup>2)</sup> Mineral mix contain in kg diet MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 170mg, ZnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 110mg, Ferric citrate 500mg, CuSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 16mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.2mg.

병아리는 각 우리별로 병아리 1수를 무작위로 뽑아 체중을 다시 측정한 다음 hepatin 처리 주사기로 심장을 찢어서 혈액을 채취한 뒤 적출한 비장과 간장의 무게를 측정하였다.

## 2. 면역원

*Salmonella typhimurium* LPS를 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 염수 (9g/1,000mL)에 용해하여 LPS 100 µg/mL 용액을 만들어 0.45 µm filter로 여과 멸균하여 면역원으로 사용하였다.

## 3. 세포성 면역

면역자극에서 회복중인 육계 3주령 병아리에 서 피하 호 염기성 세포 과민증을 이용하여 세포성 면역을 측정하였다(Corrier와 DeLoach, 1990). 각 우리에서 1수씩 취하여 처리 당 총 4수에서 오른쪽 세 번째와 네 번째 발가락 사이에 인산 완충액(PBS) phytohemagglutinin-p(PHA-p) 100 µg의 멸균 용액 0.1 mL를 주입 하였다. 대조로서 왼쪽 세 번째 및 네 번째 발가락 사이에 0.1 mL의 멸균 PBS를 주입하였다. 24시간 뒤에 오른쪽 및 왼쪽 발가락의 두께를 0.01mm까지 측정되는 digimatic calipers로 측정하여 세포성 면역을 평가하였다. 세포성 면역는 PHA-p 또는 PBS를 주입하기 전 두께를 100%로 하여 24시간 뒤의 부어오른 정도를 지수로서 나타내었다.

### (1) 실험 2

갓 부화한 육계 수평아리(Avian) 1 일령부터 Table 1에 나타난 기초사료(크릴 밀 0.0%)와 기초사료중의 대두박 2.0 % 대신 크릴 밀 A를 대치한 두 종류의 시험 사료이다. 사료당 8 우리씩 그리고 한 우리당 6수씩 배분하여 96수를 12개 우리에서 사육하였다. 실험 2의 요인은 2 사료와 LPS 주입과 Saline 주입의 2×2=4 요인에 요인당 4 반복이다. 기타 병아리의 관리 방법이나 실험 순서 또는 분석방법 그리고 데이터의 처리 및 유의차의 평가법은 실험 1과 동일하다.

## 4. 분석

탈 이온수에 현탁한 적혈구는 냉동 및 해동으로 세포막을 파괴한 후 원심 분리로 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 KCN으로 불활화 하고 MnSOD(EC 1.15.1.1) 활성을 Pyrogallol 자동산화 억제도를 평가하여(Marklund와 Marklund, 1974) 각각 측정하였다. SOD 활성은 단백질(Lowry 등, 1951) mg 당 단위(U)로 표시 하였다.

## 5. 통계처리

실험 데이터는 면역원과 크릴 밀 사료급여의 실험 1은 3×2, 실험 2는 3×2 요인 분석에 SAS(SAS Institute, Cary, NC) 프로그램의 GLM 방법으로 주 효과 및 상호관계를 조사하였다. 평균 값 사이의 유의차(p < 0.05)는 SAS의 최소 유의차 값(LSD)으로 검정 하였다.

## III 결 과

### 1. 증체량 및 사료효율

부화 후 1일 령부터 육계 병아리에 실험 1에서는 크릴 밀 A와 크릴 밀 B 사료를 그리고 실험 2에서는 크릴 밀 A 사료를 각각 급여하여 각각 2주 령에 LPS로 면역반응을 자극하여 나타나는 급성기 반응시의 증체량, 사료 섭취량과 사료효율 그리고 간장과 비장의 체중에 대한 무게 비를 Saline을 주입한 것(대조)과 비교하여 Table 2에 나타내었다.

실험 1에서, 면역반응이 없는 대조 육계 병아리에서, 기초와 크릴 밀 B 사료는 증체량과 사료 섭취량을 크릴 밀 A 사료보다 높이는 경향이 있었다. 이때 크릴 밀 사료는 사료효율을 기초사료보다 낮추는 경향을 보였다. 이와 같이 면역 반응이 없는 육계의 생산성에 미치는 크릴 밀 A와 밀 B 사료의 반응은 달랐다. 급성기 반

Table 2. Effect of dietary krill meals on the performance and relative weight of liver and spleen in 2 week old broiler chicks sensitized with *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide

Diet LPS	Experiment 1							Experiment 2				
	Basal		Krill meal A		Krill meal B		Pooled SEM	Basal		Krill meal A		Pooled SEM
	Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS		Saline	LPS	Saline	LPS	
Gain g/b/d	26.2 <sup>ab</sup>	25.3 <sup>ab</sup>	24.3 <sup>b</sup>	24.5 <sup>ab</sup>	25.8 <sup>ab</sup>	26.7 <sup>a</sup>	0.5	22.7 <sup>ab</sup>	21.6 <sup>b</sup>	25.0 <sup>a</sup>	19.5 <sup>b*</sup>	0.6
FI g/b/d	54.5 <sup>ab</sup>	52.6 <sup>b*</sup>	52.8 <sup>b</sup>	51.6 <sup>b</sup>	55.0 <sup>a</sup>	55.0 <sup>a</sup>	0.4	44.8	41.3	43.9	43.2	0.9
FE <sup>1</sup> %	48.2	48.2	46.1	47.4	46.9	48.5	0.8	50.7 <sup>ab</sup>	52.3 <sup>ab</sup>	56.9 <sup>a</sup>	45.1 <sup>b*</sup>	1.8
Liver <sup>2</sup> %	4.5 <sup>ab</sup>	4.7 <sup>ab</sup>	3.8 <sup>c</sup>	4.4 <sup>b*</sup>	4.1 <sup>b</sup>	4.9 <sup>a*</sup>	0.12	3.8 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b*</sup>	4.1 <sup>b</sup>	4.8 <sup>a*</sup>	0.10
Spleen <sup>2</sup> %	0.10 <sup>c</sup>	0.14 <sup>a*</sup>	0.09 <sup>c</sup>	0.14 <sup>a*</sup>	0.10 <sup>c</sup>	0.13 <sup>a*</sup>	0.01	0.08 <sup>b</sup>	0.11 <sup>ab</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.12 <sup>ab</sup>	0.01

  

P values	Experiment 1				Experiment 2			
	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS
Gain	2.4	0.06	0.51	0.70	3.1	0.94	0.01	0.08
FI	1.8	0.11	< 0.05	0.67	5.9	0.87	0.51	0.66
FE	4.7	0.76	0.17	0.20	9.8	0.97	0.28	0.18
Liver	0.5	0.08	< 0.01	0.51	0.6	0.23	0.10	0.60
Spleen	0.03	0.35	< 0.01	0.85	0.06	0.22	0.95	0.42

Values are mean of 4 replicates,

1. FE : Feed Efficiency : Gain/FI, 2. g/100g BW : Body Weight ; Saline : Saline injected i.p.

LPS : Birds injected with the *S. typhimurium* Lipopolysaccharide.

LSD : Least significant differences, SEM : Standard Error of Mean, FI : Feed Intake.

<sup>a-b</sup> : Means in a row without common superscript, and \* : means between Saline and LPS in a row differ significantly at p<0.05.

응 중인 육계 병아리에서, 크릴 밀 B 사료는 증체량과 사료 섭취량을 기초와 크릴 밀 A 사료를 급여한 것보다 높였으나, 사료효율은 실험사료 사이에 차이가 없었다. 기초사료를 섭취한 병아리에서, 급성기 반응은 증체량과 사료 섭취량(p < 0.05)을 대조보다 낮추었다. 그러나 크릴 밀 사료를 급여한 병아리에서는 증체량과 사료 섭취량이 면역반응 시와 대조 사이에 차이가 없었다. 면역반응은 대조에 비해서 크릴 밀 사료의 사료효율을 높이는 경향이 있었으나 기초사료에서는 이러한 경향이 없었다.

실험 2에서는, 크릴 밀 A 사료를 섭취한 육계의 급성기 반응은 증체량과 사료 효율을 유의하게(p < 0.05) 낮추었으나 사료 섭취량에는 영향이 없었다.

## 2. 간장과 비장 무게(Table 2)

대조 육계 병아리에서, 크릴 밀 A(p < 0.05)와 크릴 밀 B 사료는 기초사료를 급여한 것보다

간장무게를 낮추나 비장무게는 감소시키는 경향을 보였다. 급성기 반응은 실험 1과 실험 2에서 대조에 비해서 간장무게와 비장무게를 실험사료에 관계없이 유의하게(p < 0.05) 높였다.

## 3. SOD 활성

급성기 반응중인 병아리의 간장과 적혈구 세포액의 SOD 활성과 PHA-p 과민증에 미치는, 실험 1에서는, 크릴 밀 A와 크릴 밀 B 사료 그리고, 실험 2에서는, 크릴 밀 A의 영향을 Table 3에 나타내었다.

### (1) 실험 1

급성기 반응이 없는 대조 육계 병아리에서 크릴 밀 A 사료는 간장 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 크릴 밀 B 사료를 급여한 것보다 유의하게(p < 0.05) 높였다. 급성기 반응중인 육계의 간장세포액에서는 크릴 밀 사료는 기초사료를 급여한 것 보다 MnSOD 활성

Table 3. Effect of dietary krill meals on the SOD activity<sup>1)</sup> of liver and erythrocyte cytosols and PHA hypersensitivity in broiler stressed by LPS

Diet LPS	Experiment 1							Experiment 2				
	Basal		Krill meal A		Krill meal B		Pooled SEM	Basal		Krill meal A		Pooled SEM
	Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS		Saline	LPS	Saline	LPS	
Liver												
MnSOD	4.0 <sup>b</sup>	4.0 <sup>b</sup>	4.9 <sup>a</sup>	4.4 <sup>ab</sup>	4.1 <sup>b</sup>	4.3 <sup>b</sup>	0.12	1.0	0.9	0.9	1.0	0.03
Cu/ZnSOD	10.3 <sup>a</sup>	7.9 <sup>b*</sup>	10.7 <sup>a</sup>	10.4 <sup>a</sup>	7.8 <sup>b</sup>	10.1 <sup>a*</sup>	0.37	7.7 <sup>ab</sup>	8.3 <sup>a</sup>	6.5 <sup>b</sup>	8.1 <sup>ab*</sup>	0.30
Erythrocyte												
MnSOD	22.3	21.7	18.0	22.0	18.4	22.4	1.01	5.1	4.8	4.2	5.1*	0.17
Cu/ZnSOD	2.8 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	2.1 <sup>b</sup>	2.3 <sup>ab</sup>	2.5 <sup>ab</sup>	2.8 <sup>a</sup>	0.13	0.8	0.7	0.7	0.9*	0.02
Hypersensitivity												
PHA-p <sup>2)</sup> %	151	150	130	128	141	150	5.0	140	149	149	146	4.6
P values	Experiment 1				Experiment 2							
	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS				
Liver												
MnSOD	0.6	0.09	0.21	0.21	0.13	0.65	0.50	0.50				
Cu/ZnSOD	1.6	0.31	0.06	0.12	1.7	0.65	< 0.05	0.77				
Erythrocyte												
MnSOD	5.4	0.50	0.10	0.67	1.0	0.75	0.10	0.15				
Cu/ZnSOD	0.7	0.61	0.10	0.89	0.1	0.21	0.21	0.21				
PHA-p	26.6	0.25	0.50	0.81	21.0	0.78	0.35	0.51				

Values are mean of 4 replicates.

1) U/mg/min. 2) PHA-p : % index of thickness in footpat 24 hr after phytohemagglutinin-p injected to PBS-injected. SEM : Standard Error of Mean.

Saline : Saline injected i.p. LPS : Birds injected with the *S. typhimurium* Lipopolysaccharide.

MnSOD : Manganese superoxide dismutase; Cu/ZnSOD : Copper/zinc superoxide dismutase.

LSD : Least significant differences.

<sup>a-b</sup> : Means in a row without common superscript, and \* : means between Saline and LPS in a row differ significantly at p < 0.05.

은 높이는 경향을 보였으나 Cu/ZnSOD 활성은 유의하게(p < 0.05) 높였다. 급성기 반응은, 대조에 비해서 간장세포액의 Cu/ZnSOD 활성을, 기초사료를 급여하면 유의하게 낮추고, 크릴 밀 B 사료를 급여하면 유의하게 높였으나, MnSOD 활성에는 영향을 미치지 않았다. 간장세포액의 SOD 활성은 급성기 반응에 관계없이 크릴 밀의 종류에 따라 달랐다. 적혈구 세포액의 MnSOD 및 Cu/ZnSOD 활성은 크릴 밀 사료를 급여한 육계에서 기초사료를 급여한 것 보다 낮아지는 경향을 보였다. 급성기 반응시의 적혈구 세포액의 MnSOD 활성은 실험사료 사이에 유의차가 없었다. 그러나, 크릴 밀 B 사료는 Cu/ZnSOD 활성을 크릴 밀 A 사료에 비해서 유의하게 높였다.

크릴 밀사료를 급여하면 급성기 반응은 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 대조의 이들 값에 비해서 높이는 경향이 있었다.

(2) 실험 2

급성기 반응은 크릴 밀 A 사료를 섭취한 육계 병아리에서 간장과 적혈구 세포액중의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 유의하게(p < 0.05) 높였다.

4. PHA-p 과민반응(Table 3)

실험 1과 2에서, 크릴 밀 A와 크릴 밀 B 사료나 급성기 반응은 PHA-p 반응에 유의한 영향을 미치지 않았다. 그러나 크릴 밀 A사료와

크릴 밀 B 사료 사이에 PHA-p 반응에 미치는 경향은 달랐다.

5. 면역반응에서 회복기의 보상 생산성

Table 4에는 2주령의 LPS 면역자극에서 회복 중인 3 주령 육계의 증체량, 사료 섭취량 및 사료효율에 관한 실험 1과 실험 2의 성적을 나타내었다. 실험 1의 대조 육계 병아리에서 크릴 밀 A 및 크릴 밀 B 사료는 기초사료를 급여한 것보다 성장 율과 사료효율을 낮추는 경향이 있었다. 병아리는 기초사료와 크릴 밀 B 사료를 크릴 밀 A 사료 보다 많이 섭취하는 경향이 있었다. 실험 2에서도 크릴 밀 A 사료는 성장율과 사료효율을 낮추었다.

급성 기 반응에서 회복중인 육계는 대조에 비해서 기초사료를 급여하면 육계의 증체량과 사료효율이 낮아지는 경향이 있었으나, 사료를 적게(p < 0.05) 섭취하였다. 크릴 밀 사료를 급여하면 급성기 반응에서 회복 중인 것과 대조 사이에 증체량 또는 사료효율의 차이가 없었다. 그러나 회복중인 육계는 크릴 밀 B 사료를 크릴 밀 A사료 보다 많이(p < 0.05) 섭취하였다.

크릴 밀 B 사료를 섭취한 육계는 면역스트레스의 영향에서 회복되는 경향을 보였다. 실험 2에서는 급성 기 반응에서 회복중인 육계의 증체량과 사료효율은 기초사료를 급여하면 대조에 비해서 유의하게 낮고, 크릴 밀 A 사료를 급여한 것에서는 면역반응의 경험 여부에 관계 없이 유의하게 낮았다.

이상과 같이 기초사료를 급여한 육계에서는 2주령의 면역 스트레스에 의한 생산성 감소가 3주령에서도 회복되지 않고 계속되었다. 크릴 밀 B 사료에는 면역 스트레스 뒤의 회복 기간에 생산성을 회복을 시키는 요인이 존재한다는 것을 시사하였다. 그리고 크릴 밀 A 사료는 급여기간이 길수록 성장율과 사료효율을 감소시켰다. 따라서 급성 기 반응으로부터의 회복은 크릴 밀 A와 크릴 밀 B를 급여한 육계사이에 차이가 있었다.

IV 고 찰

육계 병아리에 LPS(Koh 등, 1996, 2001; Klasing과 Banes, 1988)나 사멸 *Staphylococcus aureus*(Klasing과 Banes, 1988) 또는 sheep red

Table 4. Effect of dietary krill meals on the performance of 3rd week-old broiler recovering from the immunological stress in 2nd week of age

Diet LPS	Experiment 1							Experiment 2				
	Basal		Krill meal A		Krill meal B		Pooled SEM	Basal		Krill meal A		Pooled SEM
	Saline	LPS	Saline	LPS	Saline	LPS		Saline	LPS	Saline	LPS	
Gain g/b/d	34.9 <sup>a</sup>	32.6 <sup>ab</sup>	31.2 <sup>b</sup>	31.2 <sup>c</sup>	32.9 <sup>ab</sup>	35.4 <sup>a</sup>	0.7	31.4 <sup>a</sup>	24.8 <sup>b*</sup>	21.1 <sup>b</sup>	0.4 <sup>b</sup>	1.0
FI g/b/d	77.5 <sup>a</sup>	74.2 <sup>ab*</sup>	74.2 <sup>ab</sup>	72.0 <sup>b</sup>	77.9 <sup>a</sup>	78.1 <sup>a</sup>	0.5	56.0 <sup>b</sup>	56.1 <sup>ab</sup>	57.0 <sup>ab</sup>	59.4 <sup>a</sup>	0.6
FE %	45.2	44.2	42.1	43.5	42.1	44.9	1.1	56.1 <sup>a</sup>	44.2 <sup>b*</sup>	37.0 <sup>b</sup>	34.3 <sup>b</sup>	1.9

  

P values	Experiment 1				Experiment 2			
	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS	LSD	Diet	LPS	Diet*LPS
Gain	3.3	< 0.05	0.09	0.21	5.9	0.11	0.26	0.66
FI	2.7	0.05	0.06	0.51	3.4	0.39	0.99	0.60
FE	5.2	0.55	0.21	0.61	10.1	0.22	0.06	0.60

Values are mean of 4 replicates, SEM: Standard Error of Mean.

FI: Feed Intake, FE: Feed Efficiency: Gain/FI. Saline: Saline injected i.p.

LPS: Birds injected with *S. typhimurium* lipopolysaccharide. LSD: Least significant difference.

<sup>a-c</sup>: Means in a row without common superscript, and \* : means between Saline and LPS in a row differ significantly at p < 0.05.

brood cell(SRBC)(Klasing 등, 1987)을 주입하여 급성 기 반응을 발생시키면 성장율과 사료 섭취량이 저하한다. 실험 1에서 기초사료를 급여한 병아리에서 급성 기 반응은 증체량과 사료 섭취량을 낮추어 상기 보고된 성적들과 비슷하였다. 그러나, 크릴 밀 사료는 면역스트레스에 의한 육계의 생산성 감소를 완화시켜 상기 연구 성적들과 경향이 달랐다. 한편 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료 급여시(고 등, 2004; 임 등, 2003)에 면역반응은 성장율과 사료 섭취량을 감소시켜, 실험 1의 크릴 밀 2.0% 사료를 급여한 성적과 달랐다. Benson 등(1993)은 LPS의 주입으로 급성기 반응중인 육계 병아리에서 에너지 함량이 높은(3,200kcal/kg이상) 사료는 성장율, 사료 섭취량 및 사료효율의 감소를 완화하나 에너지 함량이 낮은 사료(2,800kcal/kg)에서는 더 나빠진다고 하였다. 본 연구와 동일한 사료 조성의 실험(임 등, 2003)에서 기초사료나 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료의 ME 함량은 동일하였으나, 면역 반응 시에는 크릴 밀 사료의 에너지 함량이 높아지는 경향이 있었지만 생산성은 낮아졌다. 한편 면역 반응 시의 생산성에 미치는 크릴 밀 A 사료의 영향을 확인하는 실험 2에서는 면역반응으로 생산성이 감소하여 고 등(2004)과 임 등(2003)의 실험과 비슷하였다. 따라서 실험 1에서 기초사료와 크릴 밀 사료의 에너지 함량의 차이가 면역반응시의 생산성에 차이를 발생시키는 원인이 되지 않는다고 생각된다. 이것은 실험사료 사이의 에너지 함량의 차이보다도 크릴 밀에 함유된 면역 반응시에 생산성을 나쁘게 하는 어떤 확인 안된 성분의 차이에 의한다는 것을 나타낸다.

크릴 밀 0.5%와 1.0%사료(고 등, 2004; 임 등, 2003)와 본 실험의 크릴 밀 2.0% 사료를 급여한 육계 병아리에서 급성 기 반응으로 간장과 비장의 크기가 커졌다.

본 연구는 육계 병아리에 LPS 주입으로 유도된 급성 기 반응은 체중에 대한 간장, 비장 및 장의 무게를 높인다는 Roura 등(1992)의 연구 성적과 동일하였다. 내 독소나 살아있는 세균의 처리로 간장의 대사는 포유류에서도 변화한다(Kushner, 1982). Klasing(1998)은 급성기 반

응의 발생으로 간장에서 급성 기 단백질 등의 합성과 xenobiotics의 제독을 위한 영양소 이용이 높아지면 간장무게가 무거워지고, 그리고 면역세포의 비장에서의 동종 증식의 증가로 비장 무게가 무거워진다고 하였다. Dietert 등(1994)은 이와 같은 장기 크기의 변화는 급성기 반응의 강도를 비교하는 편리한 평가 자료를 제공한다고 하였다. 본 성적은 부화 후 2주간의 크릴 밀 사료 급여가 2차 면역기관에서의 급성 기 단백질 합성과 면역세포 증식에 영향이 있다는 것을 나타낸다.

면역반응의 크기가 성장율의 감소에 영향을 미치고(Beisel, 1977), 사료중의 PUFA 등 사료 조성은 면역반응의 강도에 영향을 미친다(Korver 와 Klasing,1997). 본 연구는 크릴 밀중의 PUFA등에 의한 장기의 크기 변화를 기대하고 실행되었으나, 크릴 밀 사료중의 PUFA 함량이나 면역반응에 영향을 미치고 있다고 생각되는 다른 사료성분의 조성 비율 등의 검토는 앞으로의 연구 과제이다.

급성 기 반응은 크릴 밀 사료를 급여한 병아리 적혈구 세포액의 MnSOD 와 Cu/ZnSOD 활성을 높이는 경향이 있었다(고 등, 2004). 크릴 밀의 종류에 따라 간 세포액Cu/ZnSOD 활성에 미치는 급성 기 반응의 영향은 달랐으나(실험 1), 크릴 밀 A 사료를 급여한 실험 2에서, 면역 반응은 간 세포액과 적혈구 세포액의 MnSOD 와 Cu/ZnSOD 활성을 높였다. 따라서 크릴 밀 사료를 급여한 육계 적혈구 세포액의 MnSOD 와 Cu/ZnSOD의 활성은 급성기 반응으로 높아지는 것은 고 등(2004)의 성적과 일치하였다. 포유류에서도 LPS를 주입하거나 친 염증성 사이토카인을 주입하면 SOD 활성이 증가한다(Visner 등, 1990; DiSilvestro 등, 1991). SOD 분자에 동(Cu)이 함유된 Cu/ZnSOD 활성은 사료중 동 함량이나 동급원이 면역반응시의 활성 증가에 영향을 보이지 않았다(Koh 등, 1996). 본 연구의 Cu/ZnSOD 활성 증가는 사료중 동 함량이 아닌 다른 요인의 영향에 의한다는 것을 나타낸다.

활성화한 마크로파지와 모노사이트는 슈퍼옥사이드 음이온(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)등 반응성 자유기를 생산한

다(Zhao 등, 1998). Superoxide dismutase(SOD)는 슈퍼옥사이드 음이온을 산소(O<sub>2</sub>)와 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 이산화 하는 반응을 촉매(McCord 와 Fridovich, 1969)하여 반응성 산소군(ROS) 등 반응성 자유기로부터 정상적인 세포를 보호한다. 자유기의 과 생산 등 스트레스 조건에서는 친산화제와 항산화제의 균형이 깨어져서 산화 스트레스의 원인이 된다(Jaeschke, 1995). 마크로 파지의 식 작용능력은 슈퍼 옥사이드 음이온 생산량과 비례한다(Fuente 등, 2000). 이에 따르면 SOD 활성 증가는 슈퍼옥사이드의 생산 증가에 적응하는 것이다. 크릴 밀 사료 급여시 적혈구에서의 SOD 활성의 증가는 마크로 파지나 헤테로필 등식작용 능력 증가를 나타 내린 지도 모른다. Cu/ZnSOD는 세포질 내에 그리고 MnSOD는 미토콘드리아 내에 존재하며 세포외 액에 분비되지 않는다. SOD의 활성증가는 세포 내에서의 전자전달에 영향을 미치는 반응성 자유기로부터 정상적인 세포를 보호 하기 위하여 친 산화제와 항 산화제의 균형을 유지시키는 능력의 증가를 의미한다. 간 세포액의 Cu/ZnSOD 활성은 크릴 밀 A와 크릴 밀 B 사료 사이에 또는 실험 1과 실험 2 사이에 차이가 있었다. 이것은 크릴 밀의 품질이나 조성 또는 크릴 밀의 저장기간에 따라 슈퍼옥사이드의 생산이 달라진다는 것을 나타내고 있다. 이와 같이 SOD 활성이 높아지는 원인과 더불어 사료사이에서 SOD 활성의 차이에 미치는 원인은 앞으로의 연구 과제가 될 것이다.

육계의 발가락 사이에 PHA-p를 주입하여 붓는 정도를 측정한 값(Table 3)은 피부 호염기구 과민증으로 흥선 세포(T-세포) 의존 반응(Edelman 등., 1985)이다. 이러한 세포성 면역은 흥선에서 유도된 T 임파구의 항원 인식 성을 나타낸다. 대조 및 급성 기 반응에서 회복 중인 병아리에서 실험 1의 크릴 밀 A 및 B 사료 또는 실험 2의 크릴 밀 A를 급여한 확인실험에서 PHA-p 반응에 미치는 유의한 영향은 관찰되지 않았다. PHA-p 반응의 평가에는 더 많은 실험 반복수에 의한 확인이 필요하였다.

면역반응이 없으면(대조), 기초사료와 비교하여, 육계 성장이나 사료 섭취량은 크릴 밀 0.5

또는 1.0% 사료(고 등, 2004)나 크릴 밀 2.0% 사료를 급여한 실험 모두 유의차가 없었다. 사료 효율은 사료 중 크릴 밀 함량에 관계없이 본 연구와 고 등(2004)의 연구에서 크릴 밀 사료 급여로 낮아지는 경향을 보였다. 그러나, 본 연구에서 크릴 밀 A 사료와 B 사료가 생산성에 미치는 영향이 달랐다. 급성 기 반응 시에는 크릴 밀 사료를 급여하면 생산성이 낮아지고 SOD 활성은 높아지나 크릴 밀 사료 사이에는 차이가 있었다. 면역반응 후의 생산성 회복도 크릴 밀 사이에 차이가 있었다. 크릴 밀은 그 종류에 따라서 사료로서의 가치가 달라서 생산성도 달라지나 그 원인은 본 연구에서 검토 할 수 없었다.

이상과 같이 크릴 밀의 종류에 따라 급성기 반응시와 그 후 회복시의 생산성 저하는 SOD 활성의 변화로부터 산화 스트레스가 원인이 될 것이라는 것을 시사하고 있다.

## V 요 약

급성 기 반응중인 육계에서 사료 중 크릴 밀의 생산성과 SOD 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 크릴 밀 A와 B를 이용한 실험 1과 크릴 밀 A를 이용한 확인 실험 2가 실시되었다. 실험사료는 옥수수 대두박 위주의 기초 사료 와 기초 사료 중 대두박과 2.0%의 크릴 밀 A(수입) 또는 크릴 밀 B(수입)를 대치한 사료이다. 실험 사료를 1 일령 육계 병아리에 급여하여 *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS)를 복강 내 주입하여 급성 기 반응을 발생시킨 2 주령 육계의 생산성과 Superoxide dismutase(SOD) 활성에 미치는 영향을 Saline을 주입한 대조와 비교하였다. 증체량, 사료 섭취량 및 사료효율은 크릴 밀 A와 크릴 밀 B 사료를 급여한 육계사이에 차이가 있었다. 크릴 밀 사료를 급여한 육계에서 급성기 반응은 간장과 비장 무게를 높였다. 그리고 급성기 반응은 크릴 밀 사료를 급여한 육계 병아리의 간장과 적혈구 세포액의 MnSOD와 Cu/ZnSOD 활성을 높였다. PHA-p 반응에 미치는 크릴 밀 사료의 영향은 없었다. 크릴 밀 B는 면역반응 후 회복중인



육계의 생산성을 향상시켰으나 크릴 밀 A에서는 이러한 영향이 없었다.

이상과 같이 크릴 밀의 종류에 따라 급성기 반응시와 회복시의 생산성은 SOD 활성의 변화로부터 산화 스트레스의 영향을 받고 있다는 것을 시사하고 있다.

**Key words** : 크릴 밀, 생산성, Superoxide dismutase(SOD), 급성기 반응, 육계 병아리

## VI 사 사

본 연구는 2001년 한국과학재단과 (주)인성실업의 산학협력연구 지원으로 수행된 연구결과 중 일부로서 연구비 지원에 감사드립니다.

## VII 인용 문헌

1. Beisel, W. R. 1977. Metabolic and nutritional consequence of infection. Pages 125-143 in: Advances in Nutritional Research. H.H. Draper, ed. Volume 1. Plenum, New York, NY.
2. Benson, B. N., Calvert, C. C., Roura, E and Klasing, K. C. 1993. Dietary energy source and density modulate the expression of immunologic stress in chicks. *J. Nutr.* 123:1714-1723.
3. 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.
4. 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.
5. Dietert, R. R., Golemboski, K. A. and Austic, R. E. 1994. Environment-immune interactions. *Poult. Sci.*, 73:1062-1076.
6. DiSilvestro, R. A., David, E. A. and Collignon, C. 1991. Interleukin-1 slowly increases lung fibroblast Cu-Zn superoxide dismutase activity levels. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 197:197-200.
7. 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.
8. Fuente, M. de la., Carazo, M., Correa, R. and Rio, M. del. 2000. Changes in macrophage and lymphocyte functions in guinea-pigs after different amounts of vitamin E ingestion. *British Journal of Nutrition* 84:25-29.
9. Jaesche, H. 1995. Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 209:104-111.
10. Klasing, K. C. 1987. Influence of cell sources, stimulating agents, and incubation conditions on release of interleukin-1 from chicken macrophages. *Development and Comparative Immunology*, 11: 385-394.
11. Klasing, K. C. 1998. Avian macrophages: Regulator of local and systemic immune responses. *Poultry Science* 77: 983-989.
12. Klasing, K. C. and Barnes, D. M. 1988. Decreased amino acid requirement of growing chicks due to immunologic stress. *J. Nutr.* 118:1158-1164.
13. Koh, T. S., Peng, R. K. and Klasing, K. C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poult. Sci.* 75(7):867-872.
14. 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.
15. Korver, D. R. and Klasing, K. C. 1997. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune response in chicks. *J. Nutr.* 127:2039-2046.
16. Kushner, I., 1982. The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 389:39-48.
17. 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.
18. 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.
19. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyte (hemocuperin). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
20. National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 8th Ed. National Academy Press, Washington, D.C.
21. 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.
22. 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.
23. SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT User's Guide Version 6, Fourth ed. Volume 2, Cary NC: SAS

- Institute Inc., p. 891.
24. 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.
  25. Xie, H., Rath, N. C., Huff, G. R., Huff, W. E. and Balog, J. M. 2000, Effects of *Salmonella typhimurium* lipopolysacchride on broiler chickens. *Poultry Science*, 79:33-40.
  26. 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.
  27. 고태송, 임진택, 박인경, 김재환. 2004. 살모넬라 LPS로 자극한 육계의 면역반응과 생산성에 미치는 사료 중 크릴 밀의 영향. *동물자원과학회지*, 46(2):173-182.
  28. 임진택, 김재환, 박인경, 고태송. 2003. 살모넬라 LPS로 자극한 육계의 단백질과 에너지 이용성에 미치는 사료 중 크릴 밀의 영향. *동물자원과학회지*, 45:957-966.
- (접수일자 : 2004. 3. 2. / 채택일자 : 2004. 4. 20.)