

방선균(*Nocardia* sp. CS682) 발효물의 급여가 산란계의 생산성, 혈액성상, 면역글로불린 및 소장내 미생물 함량에 미치는 영향

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

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

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

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

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

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

³Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of dietary supplementation of CS682, a fermentation product of *Actinomycetae*(*Nocardia* sp. CS682), and its commercial product DSC682[®] on the performance, blood parameters, intestinal microflora, and immune response in laying hens. Hy-Line Brown[®] laying hens were housed in two bird cages. Feeding trial lasted 5 wk under 16.5 h:7.5 h(L:D) lighting regimen. In Exp.1, a total of 480 birds of 86 wk old were assigned to four dietary treatments: Control, Antibiotics (6 ppm avilamycin), CS682-0.1 (CS682 0.1%) and CS682-1.0 (CS682 1.0% supplementation). Each treatment was replicated five times with 24 birds (or 12 cages) per replication. In Exp. 2, a total of 1,000 birds of 26 wk old were assigned to five dietary treatments: Control, Antibiotics (6 ppm avilamycin), DCS682-0.05 (DCS682 0.05%), DCS682-0.1 (DCS682 0.1%), DCS682-0.2 (DCS682 0.2% supplementation). Each treatment was replicated five times with 40 birds (or 20 cages) per replication. In Exp. 1, there were no significant differences among treatments in egg production, egg weight, broken & soft egg production, feed intake, and feed conversion ratio. Also, there were no significant differences among treatments in eggshell thickness, eggshell color and Haugh unit. However, eggshell strength was significantly ($p<0.05$) greater in CS682 and Antibiotics treatments than Control, and egg yolk color was significantly ($p<0.05$) higher in CS682-1.0 than Control. In Exp. 2, feed intake was significantly ($p<0.05$) lower in DSC682-0.05 than Control. Lightness(L) of Hunter Lab color of eggshell of DCS and Antibiotics treatments was significantly ($p<0.05$) lower than Control. Egg yolk color of DCS 0.1 and 0.2 treatments was significantly ($p<0.05$) higher than Control. Haugh unit increased significantly ($p<0.05$) in Antibiotics and DCS682-0.1 treatments. The immunoglobulin levels of plasma (IgG and IgA) and egg yolk (IgY) were not significantly affected by treatments. Antibiotics and CS682 or DCS682 treatments significantly ($p<0.05$ or 0.01) influenced some of the erythrocytes and leukocytes parameters in blood. In Exp.1, mean corpuscular volume (MCV) decreased by CS682 treatments and mean corpuscular hemoglobin (MCH) was highest in Antibiotics treatments. In Exp.2, the level of monocyte (MO) decreased in DCS682-0.10 and 0.20 treatments. The cfu of *C. perfringens* and *S. typhimurium* in small intestinal content were highest in Control and lowest in Antibiotics in both experiments. In Exp. 2, DSC682-0.05 and -0.1 treatments were highest and Antibiotic treatment was lowest in *Lactobacilli* spp. The results of the present layer experiments indicated that supplementation of 0.1~0.2% CS682 or DCS682 may increase eggshell strength, color of eggshell and egg yolk, Haugh unit, and control harmful intestinal microbes.

(Key words : *Nocardia* sp. CS682, laying hens, eggshell strength, eggshell color, small intestinal microflora)

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

서 론

축산업이 집단 사육 형태로 규모화 되어감에 따라 병원체에 노출될 가능성과 질병 전파의 위험성이 더욱 높아지게 되었으며, 이에 따라 질병을 예방 치료하기 위한 약제의 집중 사용이 증가하였다(Anadon et al., 1999). 그러나, 인간에게 치명적인 항생제 내성을 가진 MRSA(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)와 VRE(vancomycin resistant *Enterococci*)의 출현으로 가축 성장촉진용 항생제의 사용에 대한 문제점이 제기되었다(Murray, 1995). 결국 축산물 내의 항생제 잔류 문제와 내성에 대한 우려 때문에 EU를 시작으로 전 세계적으로 성장촉진용 항생제의 사용을 금지하거나 축소하는 추세이며 우리나라도 2012년에는 성장촉진용 항생제의 사용이 전면 금지될 예정이다. 따라서 성장촉진용 항생제의 대체제를 개발하기 위한 노력이 전 세계적으로 진행되고 있으며, 내성균을 제어할 수 있는 신약의 개발에 총력을 다하고 있다.

방선균 *Actinomycetes*는 자연적, 인공적인 모든 환경에서 널리 퍼져 있으며 유기물을 분해하고 항생물질 생성과 생물학적 활동이 풍부한 것으로 잘 알려져 있다. *Actinomycetes*계의 *Nocardia* sp. CS682는 항생물질 nargecinin을 생산하는데 이는 특히 MRSA에 강한 항생 반응을 보였다(Sohng et al., 2008). 본 실험에서 사용한 CS682는 CS682를 생산하기 위한 발효물을 건조시킨 것으로 시험용 쥐를 가지고 한 시험에서 어떠한 독성도 나타내지 않았고, 대조구에 비하여 CS682를 투여한 시험구에서 증체량이 증가하는 경향을 보였다(Lee et al., 2007; Shin et al., 2009).

따라서 본 연구에서는 CS682(조선대학교 제조)와 CS682를 토대로 만들어진 DSC682[®](Daehan New Pharm Co. Ltd)를 산란계 사료에 첨가 시 산란 생산성과, 난 품질, 혈액 성분, 면역성, 소장 내 미생물에 미치는 영향을 검토하기 위해 연령이 다른 시험계로 2차에 걸친 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험 사료

실험 1과 2에서 대조구로 사용한 실험 사료는 NRC(1994)에 준하여 제조한 CP 16.5%, ME 2,750 kcal/kg의 시판 산란계 사료로 그 배합비와 영양소 함량은 Table 1에서 보는 바와 같다. 실험에 사용한 항생제는 Avilamycin[®](Elanco Co. Ltd, Avilamycin 3% 제제)으로 항생제 처리구에 0.02%를 사용하여 avilamycin 6 ppm을 처리하였다. CS682는 *Actinomycetes*목의 *Nocardia* sp. CS682의 발효물로 Sohng et al.(2008)과 Cho

Table 1. Formula and composition of basal diet of laying hens in Experiment 1 and 2

Ingredients	Amount (%)
Corn, US (No.3)	41.45
Wheat, ground	15.00
SBM-44%	25.00
DDGS ¹	5.00
Canola meal	2.00
Animal fat	0.50
Molasses	0.50
Granular ark shell	1.00
Dicalcium phosphate	0.70
Limestone	8.70
Sodium chloride	0.20
Premix ²	0.15
Total	100.00
Calculated composition	
ME (kcal/kg)	2,750
CP (%)	16.5
Fat (%)	2.90
Ash (%)	13.0
Ca (%)	3.90
Available P (%)	0.33
Lys (%)	0.90
Met (%)	0.45

¹DDGS: Distiller's dried grains with soluble.

²Contains per kg of diet: vitamin A, 7,000,000 IU; vitamin D₃, 1,500,000 IU; vitamin E, 10,000 IU; vitamin K₃, 1,000 mg; vitamin B₁, 1,200 mg; vitamin B₂, 3,000 mg; vitamin B₆, 6,000 mg; vitamin B₁₂, 18 mg; folic acid, 400 mg; biotin, 40 mg; Mg, 150 mg; Zn, 60,000 mg; Mn, 90,000 mg; Fe, 40,000 mg; Cu, 8,000 mg; Co, 100 mg; I, 1,000 mg; Se, 250 mg.

et al.(2009)의 방법에 의해 제조되었다. OSYM agar(2% oat meal, 1% dried yeast, 1% mannitol, 1% soybean meal, 2% agar) 배지에 토양 샘플을 접종한 후 30°C에서 7일간 배양하여 분리하였다. 분리된 *Nocardia* sp. CS682를 jar fermentor(Ko Biotec, Korea)와 배지(1% maltose, 0.3% oat meal, 0.3% yeast extract, 0.3% soybean meal, 0.1% CaCO₃; pH 7.0)에서 5일간 배양한 다음 culture broth(5 L)를 8,000×g로 20 min 간 원심 분리한

후 mycelia cake는 제거하고 동결건조하였다.

실험 1에서는 건조물을 60배 희석한 CS682(조선대학교 제조)를 사용하였고, 실험 2에서는 건조물을 50배 희석한 DCS 682[®](Daehan New Pharm Co. Ltd 제조)를 사용하였다.

2. 실험 설계 및 사양 관리

실험 1에서는 Hy-Line Brown[®] 86주령 산란계 480수를 공시하였으며, 실험 2에서는 Hy-Line Brown[®] 26주령 산란계 1,000수를 공시하였다. 2단 4열 A형 cage에 cage당 2수씩 수용하여 randomized block design으로 배치하였으며, 물과 사료는 자유 채식케 하였고 16.5 h : 7.5 h(L : D) 점등을 실시하였다. 사양 기간은 각각 5주간이었다. 실험 1에서는 Control, Antibiotics(avilamycine 6 ppm), CS682-0.1(CS682 0.1%), CS682-1.0(CS682 1.0% 첨가) 등 4처리 5반복, 반복 당 24수(12 cage)씩 배치하였다.

실험 2에서는 Control, Antibiotics(avilamycine 6 ppm), DCS 682-0.05(DCS682[®] 0.05%), DCS682-0.1(DCS682[®] 0.1%), DCS 682-0.2(DCS682[®] 0.2% 첨가) 등 5처리 5반복, 반복당 40수(20 cage)씩 배치하였다.

3. 조사 항목 및 분석 방법

1) 산란 생산성(산란율, 난중, 연파란, 사료 섭취량, 사료 요구율)

실험 1과 2의 산란율(hen-day egg production)은 매일 오후 4시에 집란 후 계수하였다. 평균 난중은 이상란(연파란, 기형란, 오염란)을 제외한 무게를 측정하여 주 별 평균을 계산하였다. 사료 섭취량은 주 당 1회 측정(급여량-잔량)하였고, 사료 요구율(g 사료 섭취량/g 계란 중량)을 산출하였다.

2) 난품질(난각 강도, 난각 두께, Haugh unit, 난황색, 난각색)

실험 1과 2에서 각각 총 6회(0, 1, 2, 3, 4, 5주)에 걸쳐 주당 1회씩, 회당 총 200개(반복 당 10, 처리 당 50)의 계란을 임의로 선택하여 난각 강도, 난각 두께, Haugh unit, 난황색, 난각색 등의 품질 검사를 실시하였다.

난각 강도는 실험 1에서는 Texture Analyzer(Stable Micro System, UK)를, 그리고 실험 2에서는 Compression test cell of Texture System(Model T2100C, Food Technology Corp., Rockville, MD, USA)를 이용하여 측정하였고, 난각 두께는 계란의 첨단부, 둔단부, 그리고 중간 부위 등 세 곳의 난각 샘플을 Dial Pipe Gauge(Model 7360, Mitutoyo Co., Kawasaki 213,

Japan)를 이용한 후 측정하여 평균치를 구하였다. Haugh unit(HU)는 난중(W, g)과 농후 난백고(H, mm)를 측정(Model S-8400, AMES, Waltham, MA, USA)하여 공식(Eisen et al., 1962) $100 \times \log_{10}\{(H - (1.7 \times W^{0.37}) + 7.57)\}$ 에 의해서 계산하였다. 실험 1의 난각색과 난황색은 Color Fan(Eggshell; Samyang Co, Korea, Egglyolk; Roche Co, Switzerland)을 이용하여 측정하였고, 실험 2의 난각색은 Chroma Meter(Model CR-400, Minolta Corp., Japan), 난황색은 Color Fan(Roche Color Fan, Roche Co, Switzerland)을 이용하여 측정하였다.

3) 난황글로불린(IgY)

난품질을 측정 후 Hatta et al.(1988, 1990)에 따라 paper tissue(Kim Tech[®] Kimwipes[®], Kimberly-Clark Worldwide Inc., USA)를 이용하여 난백을 제거하고 난황막을 분리한 난황을 교반한 후 24시간 냉장 보관(2~8°C) 하였다. 측정 일에 난황 5 g을 증류수 5 mL(1:1)로 희석하고 30초 동안 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 여기에 0.1% λ -carraginnan (Sigma[®] λ -carraginnan; Lot#22049) 20 mL(1:2, 4배 희석)를 넣어 30분간 정치, 12,500×g로 15 min간 원심 분리하여 수용성 부분(WSF; water soluble fractions)을 획득한 다음 공시하였다. 공시 시료는 난황이 2×10^4 희석된 것이었다. 난황 WSF 내 IgY의 농도는 sandwich ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 방법을 이용하여 측정하였다. IgY standard reference 값은 Chicken IgY(Chicken IgY ELISA Kit; Alpha Diagnostic. Cat #6030)를 25, 50, 100, 250, 500, 1,000 ng/mL를 사용하여 작성하였으며, 매 측정시마다 회귀 방정식을 사용하여 값을 환산하였다.

4) 혈액성상 분석 및 혈장 IgG, IgA 측정

각 실험의 사양 종료 직후 처리당 10수씩(총 40 수) 선발하여 중앙대학교 동물시험 윤리위원회 규정에 의거하여 경추 탈골시킨 후 심장에서 혈액 5 mL씩 EDTA가 처리된 vacutainer tube와 vacutainer needle holder를 이용하여 채혈한 후 24시간 안에 혈액분석기(HEMAVET[®] HV950FS, Drew Scientific Inc., USA)로 leukocytes와 erythrocytes를 분석하였다. 여분의 혈액은 25,000×g로 20 min 원심분리한 후 혈장을 따로 분리하여 IgG, IgA 분석 전까지 냉동(-50°C) 보관하였다. 혈장 내 IgG와 IgA의 농도는 Mancini(1965)에 의해 개발된 RID test(single radial immune-diffusion test)법에 준하여 Microplate Reader(Molecular Device, #Model-Spectramax190, U.S.A)에서 흡광도 450 nm로 측정하였다. IgG standard reference 값은 Chicken IgG(ELISA Chicken IgG Core Kit. Koma Biotech. Co.

Korea)를 1,000, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 ng/mL로 희석하여 작성하였다. IgA standard reference 값도 Chicken IgA (ELISA Chicken IgA Core Kit, Koma Biotech. Co. Korea)를 1,000, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 ng/mL로 희석하여 작성하였으며 혈장 분석 시마다 각각의 회귀방정식을 사용하여 값을 계산하였다.

4. 소장 내 미생물 분석

각 실험에서 혈액을 채취한 다음 개체들의 회맹장(ileocecal junction)의 상부 10 cm씩 일정하게 절개하여(Tim et al., 2006) 그 안에 있는 모든 내용물을 멸균된 용기에 담아 분석 전까지 -50°C 에서 보관하였으며, Genomic DNA는 회맹장의 내용물로부터 Ultra Clean™ Fecal DNA Kit(MO BIO Laboratories, Inc., USA)을 이용하여 분리하였다. 간단히 요약하자면, bead tube에 sample 0.25 g을 넣고 bead solution을 넣은 후 S1부터 S5까지의 시약을 단계별로 첨가한 다음 spin filter로 여과하여 $50\mu\text{L}$ 의 DNA를 추출하였고, 얻어진 DNA extracts를 정량 분석에 사용하였다. 측정된 미생물들은 통상 유해 미생물로 분류되는 *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium과 유익 미생물로 분류되는 *Lactobacillus* spp.(Amit-Romach et al., 2004), 그리고 universal bacteria 이었고, 여기에 사용된 primer는 Table 2에 요약하였다. 분석을 위해 SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, USA) 2M $10\mu\text{L}$, forward primer 10 pmole $1\mu\text{L}$, reverse primer 10 pmole $1\mu\text{L}$, PCR-grade water(TE buffer, pH 8.0) $7\mu\text{L}$, DNA extracts $1\mu\text{L}$ 등 총 $20\mu\text{L}$ 를 microwell plate에 첨가한 후 Real-time PCR system(ABI PRISM 7500, Applied Biosystems,

USA)를 이용하여 정량 분석하였다. Standard curve는 *E. coli* (ATCC25922)의 16s rRNA gene을 이용하여 1, 10, 100, 1,000 pg/ μL 농도에서 작성한 후 비교하였다(Rutledge et al., 2003).

5. 통계분석

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

결과 및 고찰

1. 산란 생산성 및 난품질

실험 1과 2의 처리에 따른 산란계의 생산성 및 난품질에 미치는 영향은 각각 Table 3과 4에 요약하였다. 실험 1의 생산성 결과를 보면 일계 산란율(hen-day egg production)과 산란지수(hen-house egg production), 난중, 연·파란율, 사료 섭취량, 사료 요구율 등 전 항목의 5주간 평균에서 모든 처리구 간에 유의적인 차이는 나지 않았다. 난품질에 있어서 난각 두께, 난각 색깔, Haugh unit에서는 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 난각 강도가 CSC682 처리구들이 대조구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 높았으며, 항생제구와는 유의적인 차이는 없었다. 난각 두께는 처리구 간에 유의적인 차이는 없었지만 CSC682 처리구들이 대조구와 항생제구와 비교하여 두꺼운 경향이 있었다. 난황색은 CSC682-1.0 처리구가 대조구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 높았으며, CSC682 처

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

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

Table 3. Performance of laying hens (86~91 wks old) in Experiment 1

Parameter	Treatments ¹				P-value	SEM
	Control	Antibiotics	CS682-0.1	CS682-1.0		
Laying performance						
Hen-day egg production (%)	72.31	71.55	67.98	70.24	0.6061	2.388
Hen-house egg production (%)	72.31	71.55	67.86	69.81	0.5538	2.333
Egg weight (g)	68.32	67.83	68.55	68.30	0.6325	0.395
Broken & soft egg (%)	0.35	0.31	0.12	0.23	0.1515	0.070
Feed intake (g/day)	115.30	113.98	112.12	116.13	0.4212	1.758
Feed conversion (g feed/g egg mass)	2.34	2.36	2.42	2.44	0.6149	0.062
Egg quality						
Egg shell strength (kg/cm ²)	2.77 ^b	2.96 ^a	3.02 ^a	2.99 ^a	0.0396	0.701
Egg shell thickness (mm)	34.79	34.9 ⁸	35.09	35.63	0.2368	0.316
Egg yolk color	9.23 ^b	9.30 ^{ab}	9.35 ^{ab}	9.48 ^a	0.0259	0.062
Egg shell color	10.28	10.25	10.58	10.52	0.3218	0.162
Haugh unit	81.43	81.71	82.50	81.53	0.6186	0.823

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.1; CS682 0.1%, CS682-1.0; CS682 1.0% supplemented diet.

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

Table 4. Performance of laying hens (26~31wks old) in Experiment 2

Parameter	Treatments ¹					P-value	SEM	
	Control	Antibiotics	DCS682-0.05	DCS682-0.1	DCS682-0.2			
Laying performance								
Henday egg production (%)	95.41	94.39	94.45	95.36	93.67	0.7591	0.415	
Henhouse egg production (%)	95.41	94.39	94.45	95.36	93.67	0.6975	0.429	
Egg weight (g)	67.84	68.17	67.50	66.55	67.86	0.5373	0.222	
Broken & soft egg (%)	0.17	0.11	0.11	0.13	0.05	0.4504	0.030	
Feed intake (g/day)	113.41 ^a	111.76 ^{ab}	110.70 ^b	112.87 ^{ab}	111.60 ^{ab}	0.1405	2.079	
Feed conversion (g feed /g egg mass)	1.77	1.74	1.74	1.75	1.75	0.5817	0.036	
Egg quality								
Egg shell strength (kg/cm ²)	4.22	4.29	4.29	4.32	4.34	0.8700	1.528	
Egg shell thickness (mm)	35.88	35.82	36.00	36.29	36.38	0.2862	0.221	
Egg shell color (Hunter Lab) ²	L*	52.25 ^a	51.32 ^b	51.44 ^b	51.25 ^b	51.87 ^b	0.0259	0.637
	a*	18.57	14.81	14.80	14.76	14.60	0.6985	7.134
	b*	19.69	19.41	19.53	19.44	19.83	0.4569	0.856
Egg yolk color	8.67 ^b	8.84 ^{ab}	8.91 ^{ab}	8.96 ^a	9.05 ^a	0.0225	0.071	
Haugh unit	95.02 ^b	96.32 ^a	96.23 ^{ab}	96.49 ^a	95.78 ^{ab}	0.0453	0.378	

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, DCS682-0.05; DCS682[®] 0.05% , DCS682-0.1; DCS682[®] 0.1%, DCS682-0.2; DCS682[®] 0.2% supplemented diet.

²L*; 0 = black, 100 = white; a*; lower numbers = more green (less red), higher numbers = more red (less green); measurement range = (-60) to 60, b*; lower numbers = more blue (less yellow), higher numbers = more yellow (less blue); measurement range = (-60) to 60.

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

리구 간에는 유의적인 차이는 없었다.

실험 2의 생산성 결과를 보면 일계 산란율, 산란지수, 난중, 연·파란율, 사료 요구율에 있어서는 처리구 간에 유의적인 차이는 없었다. 사료 섭취량은 DCS682-0.05가 대조구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 낮았으며, 항생제구와 다른 DCS682 처리구들과는 유의적인 차이가 없었다. 난품질에 있어서 난각 강도, 난각 두께는 처리 간에 유의한 차이가 없었지만 DCS682 첨가 수준이 높아질수록 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 난각색의 경우, 명도를 나타내는 Hunter Lab color L* 지수는 처리구들이 대조구와 비교하여 유의하게($p<0.05$) 낮아 난각 색깔이 짙었으며, 난황색은 DCS682-0.1와 0.2구들이 대조구에 비해 유의하게($p<0.05$) 증가하였다. Haugh unit에서는 항생제구와 DCS682-0.1가 대조구에 비해 유의하게($p<0.05$) 증가하였고, DCS682 처리구들 간에는 유의한 차이가 없었다.

CS682와 같이 효모 계통인 *Saccharomyces cerevisiae*를 급여했을 때 연관 생산이 감소했다는 결과가 보고된 바 있으며 (Lim, 1992), 생효모 제제를 산란계에 급여 시 난각 강도, 난각 두께가 개선된다는 결과도 보고된 바 있다(이을연 등, 1995). Li et al.(2006)은 사료 내 생균제(*Bacillus subtilis*) 첨가 시 난각 두께와 강도가 다소 개선된다고 보고하였는데, 이러한 효과는 장 내의 생균제 정착으로 유리한 장내 환경 조성을 통한 더 많은 Ca 흡수를 도와 생긴 결과라고 보고하여 본 시험에서도 CSC682의 첨가가 난각의 품질에 영향을 미친 것으로 사료된다.

본 시험에서는 항생제구와 CSC682 처리구들의 산란 생산성은 대조구와 비교하여 유의한 차이가 없었는데, 이러한 원인은 본 실험 농장의 조건과 기초 사료의 영양소 함량이 양호하여 처리구 간에 큰 차이가 나타나지 않았던 것으로 사료된다. Bird(1969)는 기초 사료가 양호할 때에는 항생제 첨가 효과가 잘 나타나지 않는다고 하였다. 결론적으로 실험 1과 2의 결과를 보았을 때, 산란계에 CS682-0.1~0.2% 첨가는 난각 강도, 난각 두께, 난황색, 난각색, Haugh Unit를 개선시키는 긍정적인 효과가 있었다.

2. 난황IgY와 혈장 IgG 및 IgA

실험 1과 2에서의 plasma IgG와 IgA 그리고 egg yolk IgY의 결과는 Table 5에 요약하였다. 본 실험에서는 혈장의 IgG와 IgA 그리고 난황의 IgY는 처리에 따른 유의적인 차이는 없었다. 김찬호 등(2010)은 산란계에 생균제 급여 시 혈장 IgG가 대조구와 비교하여 유의적으로 증가한다고 보고하였으며, 박대영 등(2002)은 효모 배양물 첨가 시 혈장 IgG 농도가

Table 5. Plasma and egg yolk immunoglobulins of laying hens fed experimental diets in Experiment 1 and 2

Treatments ¹	Plasma IgG	Plasma IgA	Egg yolk IgY
	-----mg/mL-----		
Experiment 1			
Control	6.05	10.52	8.59
Antibiotics	5.96	9.27	9.24
CS682-0.1	5.89	9.15	9.43
CS682-1.0	5.68	11.01	8.73
P-value	0.9095	0.3965	0.2961
SEM(n=10)	0.299	0.639	0.275
Experiment 2			
Control	4.71	8.97	7.84
Antibiotics	5.00	9.45	8.31
DCS682-0.05	4.72	8.78	7.96
DCS682-0.1	4.12	9.19	8.16
DCS682-0.2	4.99	9.00	7.88
P-value	0.8459	0.3696	0.4985
SEM(n=10)	0.517	0.737	0.237

¹Exp. 1: Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.1; CS682 0.1%, CS682-1.0; CS682 1.0% supplemented diet.

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

증가한다고 보고하였다. Maria et al.(2010)이 병원체에 감염된 닭에게 생균제와 항생제를 급여했을 때 생균제를 투여한 닭에서 IgY가 증가하였다. 본 실험의 결과가 이들의 연구결과와 일치하지 않는 것은 균종과 환경의 차이에 의한 것으로 추론된다.

3. 혈액 성상

실험 1과 2의 처리에 따른 혈액 성상 결과는 Table 6, 7에 요약하였다. 실험 1에서 leukocytes와 관련하여 전 항목에서 유의적인 차이는 없었다. Erythrocytes의 경우 MCV(적혈구 용적)에서는 대조구가 CS682 처리구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 높았으며, MCH(평균 적혈구 혈색소량)은 항생제구가 대조구와 CS682 처리구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 높았다. 실험 2에서 염증, 조직 괴사 시 증가하는 단핵구(MO)가

Table 6. Leukocytes and erythrocytes in blood of laying hens fed experimental diets in Experiment 1

Parameter	Treatments ¹				P-value	SEM
	Control	Antibiotics	CS682-0.1	CS682-1.0		
Leukocytes²						
WBC (K/ μ L)	12.04	10.72	12.27	15.36	0.2307	2.407
HE (K/ μ L)	1.82	1.30	1.91	3.20	0.1041	0.820
LY (K/ μ L)	8.94	8.35	9.00	10.14	0.5278	1.279
SI (NE/LY)	0.20	0.14	0.16	0.25	0.1552	0.054
MO (K/ μ L)	1.14	0.95	1.12	1.38	0.4623	0.281
EO (K/ μ L)	0.12	0.10	0.18	0.40	0.0697	0.133
BA (K/ μ L)	0.02	0.02	0.06	0.15	0.0631	0.058
Erythrocytes³						
RBC (M/ μ L)	2.76	2.81	2.82	2.99	0.1146	0.103
Hb (g/dL)	9.99	10.76	10.33	10.73	0.1417	0.044
HCT (%)	25.32	25.62	24.99	26.55	0.3441	0.945
MCV (fL)	91.57 ^a	91.06 ^{ab}	88.97 ^b	88.88 ^b	0.0389	1.188
MCH (pg)	36.30 ^b	38.32 ^a	36.72 ^b	35.96 ^b	0.0115	0.757
MCHC (g/dL)	39.64	42.05	40.19	40.45	0.1431	1.075

¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.1; CS682 0.1%, CS682-1.0; CS682 1.0% supplemented diet.

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

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

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

DCS682-0.10, DCS682-0.20 처리구들이 대조구와 DCS682-0.05와 비교하여 유의적으로($p < 0.01$) 낮았다. Erythrocyte parameter의 경우, 전 항목에서 유의적인 차이가 없었다. 실험 1과 2에서 처리에 따른 혈액 내 leukocytes와 erythrocytes 수준의 차이는 시험계의 연령(실험 1; 86주령, 실험 2; 24주령)에 따른 차이로 보여진다고 사료된다.

Melvin(1984)에 의하면 가금에서 혈액 중 leukocytes와 erythrocytes의 정상 범위는 백혈구(white blood cell; WBC) 12~30 K/ μ L, 호중구(hetrophil; HE) 3~6 K/ μ L, 림프구(lymphocytes; LY) 7~15 K/ μ L, 단핵구(monocyte; MO) 0.2~2.0 K/ μ L, 호산구(eosinophil; EO) 0.0~1.0 K/ μ L, 호염구(basophil; BA) 0.0~0.3 K/ μ L, 적혈구(red blood cell; RBC) 2.5~3.5 K/ μ L, 헤모글로빈(hemoglobin; Hb) 7.0~13.0 M/ μ L, 적혈구 용적(hematocrit; HCT) 22.0~35.0 g/dL, 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume; MCV) 90~140 fL, 평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin; MCH) 25~37 pg, 평균 적혈구 색소농

도(mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) 21~39 g/dL이라고 보고하였다. 혈액 내 leukocytes와 erythrocytes의 수치는 신체상 이상이나 환경적 스트레스 요인이 있을 경우 정상 범위에서 벗어나지만, 본 실험에서 조사한 혈액 parameter들은 대체적으로 정상 범위에서 크게 벗어나지 않았다. 여러 가지 첨가제와 영양 및 사양 조건이 산란계의 혈액성상에 미치는 영향에 대한 연구 결과가 아직 희소하므로, 이의 규명을 위해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 소장 내 미생물

실험 1과 2의 처리에 따른 소장 내용물 중 미생물 함량은 Fig. 1에 요약하였다. 실험 1에서 *C. perfringens* 수는 항생제 구에서 대조구와 비교하여 유의적으로($p < 0.05$) 감소하였고, CS682 처리구들은 유의적인 차이가 없었으나 대조구에 비해 낮은 경향이 있었다. *S. Typhimurium* 수는 유의적으로($p < 0.05$)

차이가 있었는데, 항생제구가 가장 낮았고 다음으로 CS682 처리구들이었으며 대조구에서 가장 높았다. Universal bacteria,

Lactobacillus 그리고 *E. coli*의 수는 처리간에 유의적인 차이가 없었다. 실험 2에서는 *Lactobacillus* 수가 DCS682-0.05와 DCS

Table 7. Leukocytes and erythrocytes in blood of laying hens fed experimental diets in Experiment 2

Parameters	Treatments ¹					P-value	SEM
	Control	Antibiotics	DCS682-0.05	DCS682-0.10	DCS682-0.20		
Leukocytes²							
WBC (K/ μ L)	17.29	18.08	19.46	16.06	17.55	0.7301	1.734
HE (K/ μ L)	1.80	1.39	2.32	2.17	2.13	0.4766	0.390
LY (K/ μ L)	13.93	15.30	14.13	12.13	11.67	0.6082	1.809
SI (NE/LY)	0.14	0.12	0.18	0.19	0.17	0.4176	0.048
MO (K/ μ L)	1.95 ^A	1.20 ^{AB}	1.43 ^A	0.20 ^B	0.19 ^B	0.0001	0.249
EO (K/ μ L)	0.18	0.19	0.37	0.31	0.42	0.2603	0.091
BA (K/ μ L)	0.04	0.07	0.13	0.12	0.18	0.1861	0.041
Erythrocytes³							
RBC (M/ μ L)	2.28	2.58	2.37	2.21	2.45	0.8005	0.232
Hb (d/dL)	10.24	6.47	6.26	5.99	6.49	0.4526	1.811
HCT (%)	11.14	16.36	25.21	18.39	13.95	0.1311	3.752
MCV (fL)	82.28	97.06	95.98	95.32	80.08	0.0661	6.902
MCH (pg)	30.02	27.50	28.18	31.08	29.82	0.6833	4.780
MCHC (g/dL)	31.85	28.46	29.54	33.18	30.38	0.1222	0.055

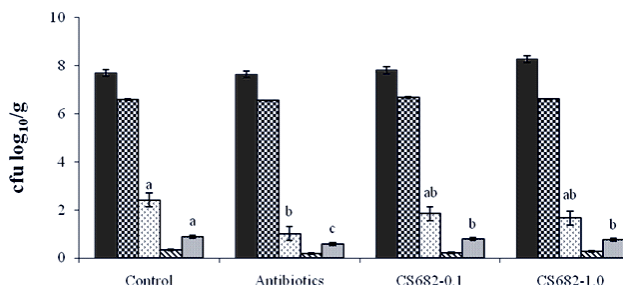
¹Control; control diet, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, DCS682-0.05; DCS682[®] 0.05%, DCS682-0.1; DCS682[®] 0.1%, DCS682-0.2; DCS682[®] 0.2% supplemented diet.

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

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

^{a,b,A,B} Means with the different superscripts differ significantly ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

Experiment 1



Experiment 2

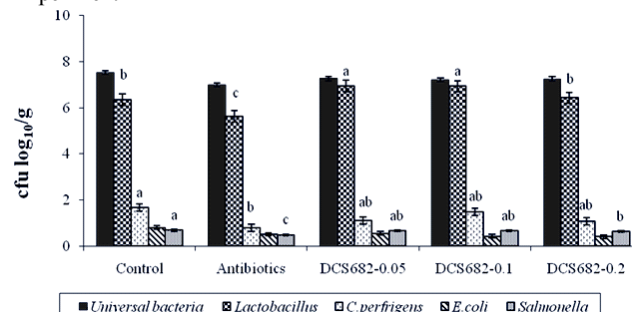


Fig. 1. Microflora in small intestinal content of laying hens fed experimental diets in Experiment 1 and 2.

Exp. 1 : Control; control diets, Antibiotics; avilamycine 6 ppm, CS682-0.1; CS682 0.1%, CS682-1.0; CS682 1.0%

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

682-0.1구들에서 유의적으로($p<0.05$) 높았고, 다음으로 대조구와 DCS682-0.2 첨가구였으며 항생제구가 가장 낮았다. *C. perfringens* 수는 항생제구에서 대조구와 비교하여 유의적($p<0.05$)으로 감소하였고, CS682 처리구들은 유의적인 차이가 없었으나 대조구에 비해 낮은 경향이 있었다. *S. Typhimurium*은 처리구간에 유의적인($p<0.05$) 차이가 있었는데 항생제구가 가장 낮았고, 다음으로 DCS682-0.2이었으며, DCS682-0.05와 0.1구들은 대조구보다는 낮았으나 유의한($p<0.05$) 차이는 없었다.

소장 내 염증과 설사를 유발하는 *C. perfringens*(Immerseel et al., 2004)가 항생제 첨가에 의해 감소된다는 연구 결과(Arakaw et al., 1975; Collier et al., 2003)가 보고되었다. 실험 1과 2의 경우, 장 내용물 중 *S. Typhimurium* 수는 항생제 처리에 의해 유의하게 감소하고, 이보다는 약하지만 CS682 또는 DCS682 처리에 의해 감소하는 것을 보여주었다. 항생제를 첨가함에 따른 *Salmonella* 감소 효과는 다수(Richard et al., 1993; Van Immerseel et al., 2002) 보고되어 본 실험 결과와 유사하였다. 실험 2의 경우 *Lactobacillus*가 DCS682-0.05와 DCS682-0.1 처리구들에서 유의하게 증가하는 경향을 보였는데, *Lactobacillus*의 배양 배지를 가금에 급여 시 *Lactobacillus*가 증가했다는 결과(Jin et al., 1998)와 유사하였다. 또한 *Lactobacillus*의 유의적인 증가로 인한 유해균(*C. perfringens*, *S. Typhimurium*)이 감소되는 것은 Carita(2005)의 가금에서의 경쟁적 배제에 관한 연구 결과와 유사하였다. 실험 1과 2의 결과를 볼 때 소장 내 미생물은 CS682 0.1% 또는 DCS682 0.1~0.2% 수준의 첨가로 유해균으로 알려진 *C. perfringens*와 *S. Typhimurium*을 감소시키고, 유익균으로 알려진 *Lactobacillus*를 증가시키는 것으로 사료된다. 한편, 항생제 처리는 유해균과 유익균 모두를 감소시키는 결과를 보여 주었다.

적 요

본 연구는 방선균 목 노카르디아 종 CS682 균주의 발효물 CS682와 이를 바탕으로 한 제품 DCS682[®]를 산란계에게 급여 시 산란 생산성, 난품질, 혈액 성분, 소장 내 미생물, 면역성에 미치는 효과를 알아보기 위해 실시하였다. 실험은 Hy-Line Brown[®] 갈색 산란계로 실시하였는데, 실험 1은 86주령, 실험 2는 26주령의 실험계를 2단 4열 2수 케이지에 수용하여 실시하였다. 실험 1은 대조구, 항생제구(avilamycin 6 ppm), CS 682-0.1(CS682 0.1%), CS682-1.0(CS682 1.0% 첨가) 등 4 처리였으며, 5반복, 반복당 24수(12케이지), 총 480수로 실시하였고, 실험 2는 대조구, 항생제구(avilamycin 6 ppm), DCS682-0.05(DCS682[®] 0.05%), DCS682-0.1(DCS682[®] 0.1%), 그리고 DCS

682-0.2(DCS682[®] 0.2% 첨가) 등 5처리였으며 5반복, 반복당 40수(20케이지), 총 1,000수로 실시하였다. 실험 1에서는 산란율, 난중, 연·파란율, 사료 섭취량, 사료 전환율 등 산란 생산성에는 유의한 차이가 없었다. 난품질에서 난각 강도는 항생제구와 CSC682 처리구들이 유의적($p<0.05$)으로 높았으며, 난황색은 CSC682-1.0 처리구가 유의적($p<0.05$)으로 높았다. 실험 2에서는 산란 생산성에서 사료 섭취량이 DCS682-0.05구가 대조구와 비교하여 유의적($p<0.05$)으로 낮았다. 난각색에서 Hunter Lab color L(Lightness) 즉 밝기가 항생제구와 DCS682 처리구들이 유의적($p<0.05$)으로 낮았다. 난황색은 DCS682-0.1~0.2구들이 유의적($p<0.05$)으로 높았으며, Haugh unit은 항생제구와 DCS682-0.1구가 유의적($p<0.05$)으로 높았다. 실험 1과 2에서 혈장 면역글로부린(IgG, IgA) 및 난황 면역글로부린(IgY)의 함량은 처리구간에 유의한 차이가 없었다. 실험 1에서 erythrocytes 중 평균 적혈구 용적(MCV)은 대조구가 유의적($p<0.05$)으로 높았으며, 평균 적혈구 혈색소량(MCH)은 항생제구가 유의적으로 높았다. 실험 2에서는 leukocytes 중 단핵구(MO)에서 대조구와 DCS682-0.05구가 유의적으로($p<0.05$ 또는 0.01) 높았다. 실험 1에서 *C. perfringens*수는 항생제구에서 대조구와 비교하여 유의적으로($p<0.05$) 감소하였다. *S. typhimurium*수는 유의적으로($p<0.05$) 차이가 있었는데 항생제구가 가장 낮았고 다음으로 CS682 처리구들이었으며 대조구에서 가장 높았다. Universal bacteria, *Lactobacillus* 그리고 *E. coli*의 수는 처리간에 유의적인 차이가 없었다. 실험 2에서는 *Lactobacillus* 수가 DCS682-0.05와 DCS682-0.1구들에서 유의적으로($p<0.05$) 높았고 다음으로 대조구와 DCS682-0.2 첨가구였으며 항생제구가 가장 낮았다. *C. perfringens* 수는 항생제구에서 대조구와 비교하여 유의적($p<0.05$)으로 감소하였다. *S. Typhimurium*은 처리간에 유의적인($p<0.05$) 차이가 있었는데 항생제구가 가장 낮았고 다음으로 DCS682-0.2이었으며, DCS682-0.05와 0.1구들은 대조구보다는 낮았으나 유의한($p<0.05$) 차이는 없었다.

결론적으로 CS682 0.1% 또는 DCS682 0.1~0.2% 첨가는 난각 강도, 난황색, 난각색, Haugh unit를 개선시키고, 소장 내 유해 미생물을 억제하는 긍정적인 효과를 보였다.

(색인어: *Nocardia* sp. CS682, 산란계, 난각 강도, 난각색, 소장 내 미생물)

사 사

본 연구는 조선대학교 약학대학에서 실시한 농림수산식품부 기술개발 과제(가축사료용 항생제 대체물질 산업화 기술

개발, 2008)의 제 2협동과제(1, 2차 년도)로 실시하였습니다.

인용문헌

- Amit-Romach E, Sklan D, Uni Z 2004 Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry Sci* 83:1093-1098.
- Anadon A, Martnez-Larranaga MR 1999 Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: Regulatory aspects. *Livestock Production Sci* 59:183-198.
- Arakawa A, Oe O 1975 Reduction of *Clostridium perfringens* by feed additive antibiotics in the ceca of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Poultry Sci* 54(4):1000-1007.
- Bird HR 1969 Biological Basis for the Use of Antibiotics in PoulTRY Feed. Proc Symp NAS Washington D.C. USA.
- Carita Schneitz 2005 Competitive exclusion in poultry - 30 years of research. *Food Control* 16(15):657-667.
- Cho SS, Sohng JK, Lee HJ, Park SJ, Jaya RS, Yoo JC 2009 Quantitative analysis of nargenicin in *Nocardia* sp. CS682 culture by high performance liquid chromatography. *Arch Pharm Res* 32(3):335-340.
- Collier CT, van der Klis JD, Deplancke B, Anderson DB, Gaskins HR 2003 Effects of tylosin on bacterial mucolysis, *Clostridium perfringens* colonization, and intestinal barrier function in a chick model of necrotic enteritis. *Antimicrob Agents and Chemother* 47(10):3311-3317.
- Eisen EJ, Bohren BB, McKean HE 1962 The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. *Poultry Sci* 41:1361-1468.
- Hatta H, Sim JS, Nakai S 1988 Separation of phospholipids from egg yolk and recovery of water-soluble proteins. *J Food Sci* 53:425-427.
- Hatta H, Kim M, Yamamoto T 1990 A novel isolation method for hen egg yolk antibody, "IgY". *Agric Biol Chem* 54:2531-2535.
- Heilig HGHI, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans AD, Willem DV 2002 Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol* 68(1):114-123.
- Immerseel FV, Buck JD, Pasmans F, Huyghebaert G, Haesebrouck F, Ducatelle R 2004 *Clostridium perfringens* in poultry: An emerging threat for animal and public health. *Avian Pathol* 33(6):537-549.
- Jennifer AU, Shiao YW, David FU, Ellender RD 2007 *Methanobrevibacter ruminantium* as an indicator of domesticated-ruminant fecal pollution in surface waters. *Appl Environ Microbiol* 73(21):7118-7121.
- Jin LS, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S 1998 Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Sci* 77(9):1259-1265.
- Lee JC, Ahn TH, Kang SS, Moon CJ, Bae CS, Kim SH, Yoo JC, Kim JC 2007 Single oral dose toxicity evaluation of CS682, a fermentation product of Korean soil bacteria, in rats. *Lab Anim Res* 23(4):401-404.
- Li L, Xu CL, Ji C, Ma Q, Hao K, Jin ZY, Li K 2006 Effects of a dried *Bacillus subtilis* culture on egg quality. *Poultry Sci* 85(2):364-368.
- Lim DV 1992 Effect of diet quality and Yea-Sacc1026 on performance of commercial layers. *Biotechnology in the Feed Industry*. Alltech Publ, Ky. p 412.
- Malinen E, Kassinen A, Rinttila T, Palva A 2003 Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiol* 149:269-277.
- Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF 1965 Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2(3):235-254.
- Maria B, Wanda S, Andrzej KS, Roman WJ, Elzbieta B, Andrzej O, Signe K, Jan J, Barbara KW, Daniela H 2010 The effect of various probiotic strains or avilamycin feed additive on immune defense markers and acute-phase response to *Salmonella* infection in chickens. *Probiotics & Antimicro Prot* 2(3):175-185.
- Melvin JS 1984 Physiological properties and cellular and chemical constituents of blood. *Ducks' Physiological of Domestic Animals*. 10th Ed.
- Murray BE 1995 What can we do about vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 20:1134-1136.
- NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. National Research Council. National Academy of Science. Washington, D.C.
- Richard KG, Henry DS, Peter SH 1993 Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding

- of *Salmonella enteritidis* by laying hens. Avian Dis 37(4): 1085-1091.
- Rutledge RG, Cote C 2003 Mathematics of quantitative kinetic PCR and the application of standard curves. Nucleic Acids Res 31(16):1-6.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT User's Guide Release 6.12 Edition SAS Institute Inc Cary Nc USA.
- Shin IS, Lee JC, Park NH, Kang SS, Moon CJ, Kim SH, Shin DH, Yoo JC, Kim JC 2009 Subacute toxicity study of CS682, a fermentation product of Korean soil bacteria, in rats. Lab Ani Res 25(1):7-13.
- Sohng JK, Yamaguchi T, Seong CN, Baik KS, Park SK, Lee HJ, Jang SY, Simkhada JR, Yoo JC 2008 Production, isolation and biological activity of nargenicin from *Nocardia* sp. CS682. Arch Pharm Res 31:1339-1345.
- Songjiinda P, Nakayama J, Tateyama A, Tanaka S, Tsubouchi M, Kiyohara C, Shirakawa T, Sonomoto K 2007 Differences in developing intestinal microbiota between allergic and non-allergic infant: A pilot study in Japan. Biosci Biotechnol Biochem 71(9):2238-2242.
- Steel RGD, Torrie JH 1980 Principles and Procedures of Statics (2nd Ed.) a Biometrical Approach. McGraw-Hill Publishing Co., New York, NY.
- Tim JD, Janet EH, Sean MH, Andrew GVK 2006 Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. Applied and Environmental Microbiology Apr 72(4):2815-2823.
- Van Immerseel F, Cauwerts K, Devriese LA, Haesebrouck Fand Ducatelle R 2002 Feed additives to control Salmonella in poultry. World's Poult Sci 58:501-513.
- Widjoatmodjo MN, Fluit AC, Torensma R, Kellerand BHI, Verhoef J 1991 Evaluation of magnetic immuno PCR assay for rapid detection of Salmonella. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 10(11):935-938.
- 김찬호 우경천 김근배 박용하 백인기 2010 혼합 또는 단일 생균제가 산란계와 육계의 생산성, 소장내 미생물 균총 및 면역 체계에 미치는 영향. 한국가금학회지 37(1):51-62.
- 박대영 남궁환 백인기 2002 Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*)가 육계의 생산성, 소장내 미생물 균총 및 혈청 IgG 농도에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지 44:289-296.
- 이을연 이봉덕 지설하 박홍석 1995 생효모배양물의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향. 한국가금학회지 22(2): 77-84.
- (접수: 2010. 12. 24, 수정: 2011. 2. 24, 채택: 2011. 3. 3)