

## 육계에서 품종 및 사육 밀도가 생산성 및 생리적 적응성 지표에 미치는 영향

장인석<sup>†</sup> · 윤서현 · 고영현 · 김세윤 · 송민혜 · 김종선 · 손시환 · 문양수

경남과학기술대학교 동물생명과학과

### The Effect of Stocking Density and Strain on the Performance and Physiological Adaptive Responses in Broiler Chickens

In-Surk Jang<sup>†</sup>, Seo-Hyun Yun, Young-Hyun Ko, Se-Yun Kim, Min-Hye Song, Jong-Sun Kim, Sea-Hwan Sohn and Yang-Soo Moon

Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

**ABSTRACT** The aim of this study was to determine the effects of stocking density and strain on the performance and physiological adaptive responses including the plasma corticosterone content and the level of mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and antioxidant enzymes in broiler chicks. A total of 300 birds of two strains (150 Ross strain vs. 150 Cobb strain) aged 3-d old were allotted into two stocking densities (standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/bird vs. high stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/bird) in battery cages by 2×2 factorial designs with ten replicates until 35 d of age. There was no significant strain effect on body weight, feed intakes and feed to gain ratio and the relative organ weights. However body weight, feed intakes and relative organ weight were found to be significantly ( $P<0.05$ ) affected by the effect of stocking density. Plasma corticosterone level was not affected by both stocking density and strain effects. Hepatic mRNA expression of pro-inflammatory cytokines including interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-18 and interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) was not significantly changed by the effects of strain and stocking density. However, the mRNA expression of glutathione peroxidase (GPX) was affected by strain, showing that Ross strain decreased ( $P<0.05$ ) the GPX expression. With respect to the effect of stocking density, there was a significant ( $P<0.05$ ) increase in superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and GPX mRNA expression in the liver from high stocking density group. Splenic pro-inflammatory cytokine expression was not also affected by stocking density and strain, except that IL-18 mRNA significantly ( $P<0.05$ ) decreased in Cobb strain under high stocking density. The mRNA expression of SOD and CAT was significantly ( $P<0.05$ ) affected by the effects of stocking density and strain. In conclusion, growth performance was not affected by strain but stocking density. Although mRNA expression of major pro-inflammatory cytokines was not changed by stocking density and strain, antioxidant enzyme was significantly affected by stocking density, strain or even organ in birds under summer conditions. More detailed studies still needed to be explored to elucidate the effects of environmental conditions and genetic background on physiological responses in birds.

(Key words : stocking density, strain, Ross, Cobb, cytokines, antioxidant enzymes)

## 서 론

닭에서 생산성에 미치는 요인으로 품종과 같은 유전적 배경과 사육 밀도와 온도 등과 같은 환경으로 크게 구분할 수 있다. 이들 요인들이 체조직의 항상성 유지에 관련된 다양한 생리적 지표에 영향을 미쳐 궁극적으로 닭의 생산성을 결정하게 된다(Albentosa et al., 2003; Kang et al., 2013; Sohn et al., 2014; Uitdehaag et al., 2008). 따라서 닭의 품종

및 사육 환경 요인이 생산성과 생리적 지표에 미치는 영향을 분석하여 동물 복지에 적합한 사육 방법과 품종을 찾고자 하는 다양한 노력이 진행되고 있다.

닭의 품종 및 계통 차이에 따른 환경 스트레스의 반응 정도를 고찰하면, 일반적으로 상업화를 위해 선발·육종되어 개량된 품종은 외부 스트레스 요인에 대한 반응이 높은 것으로 알려져 있다. Soleimani et al.(2011)의 연구에 따르면, 적색야계(Red Jungle Fowl)와 토종계(village fowl) 및 상업

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : isjang@gntech.ac.kr

용 육계를 대상으로 고온에 따른 열 스트레스 지표를 분석한 결과, 혈액 생화학적 성분과 corticosterone 농도는 상업용 육계가 재래 품종에 비해 열 스트레스에 훨씬 민감하게 반응하였다. 동일한 유전적 배경을 가진 육계 품종을 서로 다른 사육 환경에서 10세대 정도 계대 선발하여 형성된 계통(line A 및 B)에서도 콕시듐을 감염시켰을 때, 계통에 따라 체중, 콕시듐 민감도 및 감염 스트레스의 반응 정도는 현저한 차이가 있는 것으로 보고되었다(Gilbert et al., 2011). 또한 모색에 따른 유전적 배경도 환경 스트레스 반응에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는 바, 유색계가 백색계보다 스트레스 반응에 대한 저항성이 큰 것으로 보고되었다(Albentosa et al., 2003; Sohn et al., 2014; Uitdehaag et al., 2008). 유색계가 백색계에 비해 혈중 corticosterone 농도가 낮았고(Fraisse and Cockrem, 2006), serotonin 수준은 높게 나타났다(De Haas et al., 2013). 스트레스 관련 혈액 생화학적 지표들과 더불어 행동학적 반응에서도 이와 유사한 결과들이 보고되어 모색 유전자도 스트레스 반응에 영향을 미치는 것으로 보인다(Albentosa et al., 2003; Uitdehaag et al., 2008).

환경 요인 중 사육 밀도는 육계의 생산성 및 동물 복지와의 밀접한 관계가 있는 것으로 고밀도 사육 시 개체의 성장률은 감소하지만, 단위 면적 당 많은 육계를 생산할 수 있어 생산업자들이 선호하고 있다(Feddes et al., 2002). 그러나 과도한 사육 밀도는 닭에게 스트레스에 따른 건강 및 이상 행동을 초래하여 생산성에 부정적인 영향을 미치고, 소비자에게도 동물성 식품 생산 과정에서 발생하는 동물 복지 문제를 유발시킨다(Vanhonacker and Verbeke, 2009). 특히 육계에서 고밀도 사육은 환경 온도와 암모니아 발생 증가 및 체내 활성산소 증가 등과 같은 지속적 스트레스를 유발시켜 항상성 유지의 불균형을 초래한다(An et al., 2012; Beloor et al., 2010). 따라서 이러한 사육 환경 조건은 결국 면역 작용과 항산화 방어 체계를 손상시켜 동물의 건강과 생산성을 저하시킨다(Puvadolpirod and Thaxton, 2000).

닭에서 우수한 품종 및 적절한 사육 환경을 평가하는 방법으로는 각종 스트레스 관련 생리적 지표들을 찾아 그 변화를 분석하는 것으로 혈액 생화학 성분과 백혈구 변화(Munck et al., 1984; Shini, 2003; Soleimani et al., 2011; Thaxton et al., 2006), corticosterone 수준(De Haas et al., 2013; Fraisse and Cockrem, 2006; Mack et al., 2013; Shini, 2003), 면역항체 지표(Kaiser et al., 2009; Singh et al., 2009) 및 행동학적 분석(Uitdehaag et al., 2008) 등이 널리 이용되고 있다. 그러나 닭에서 사육 밀도 증가에 따른 동물 복지에 관련된 다양한 지표들을 조사하였지만, 많은 요인들의 상호작용 및 복

합성으로 이들 지표들의 일관성은 높지 않은 것으로 알려져 있다(Thaxton et al., 2006). 최근에는 닭에서 사육 밀도, 추위, 고온 등과 같은 외부 스트레스 요인이 친염증 사이토카인 및 항산화 방어력에 영향을 미치는 연구 결과가 발표되었다(Hangalapura et al., 2006; Jang et al., 2014; Kaiser et al., 2012; Kang et al., 2011). 특히 스트레스에 따른 corticosterone 수준의 증가와 물리적 스트레스 요인이 면역 작용과 직접적인 연관성이 있다는 연구 결과가 발표되면서 염증 관련 사이토카인이 스트레스 평가 지표로서 주목 받고 있다(Hangalapura et al., 2006; Shini et al., 2010). 또한 사육 온도, 사료 첨가제 및 대사적 스트레스, 유전적 배경 등과 같은 다양한 요인들이 체조직의 활성산소 발생과 항산화 효소의 발현과 밀접한 관계(Lin et al., 2008)가 있으며, 항산화 방어 체계와 면역 작용의 상호 연관성 역시 증명되었다(Belo et al., 2005; Yun et al., 2012).

따라서 본 연구는 우리나라에서 가장 많이 사육되는 육계 품종(Ross vs. Cobb)에서 하절기 고온기의 사육 밀도(표준 밀도 vs. 고밀도)가 생산성, 면역 관련 사이토카인 및 항산화 효소의 발현을 조사하여 품종과 사육 밀도가 체내 생리적 지표의 반응에 미치는 영향에 대하여 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시 동물 및 시험 설계

시험 동물은 육계 수컷 1일령 Ross와 Cobb 품종 각각 150 수로서, 육계 계열화 회사에서 공급받아 2일간의 적응 기간을 거쳐 3일령(평균 체중,  $33.05 \pm 0.79$  g)에 시험에 공시하였다. 시험 설계로서 시험구는 각 품종별 표준 밀도구 5수/케이지(SD,  $n=10$ ,  $0.046$  m<sup>2</sup>/두, 닭 사육시설 소요 면적 농림부 고시 제 2004-89호에 준함), 고밀도구 10수/케이지(HD,  $n=10$ ,  $0.023$  m<sup>2</sup>/두)를 완전임의 배치하여 2×2 요인 시험으로서 하절기에 3~35일령까지 사양 시험을 실시하였다.

### 2. 사양 관리

본 시험에 사용한 사료는 옥수수, 밀, 대두박 등을 위주로 배합하고, 대사 에너지, 조단백질 및 기타 영양소 수준은 한국사양표준에 근거하여 제조한 육계 전기(3~21 일령) 및 후기(22~35 일령) 상업용 사료를 구입하여 사용하였다. 육계 전기 사료는 조단백질 22%, lysine 1.38%, 대사 에너지 3.10 Mcal/kg, 조지방 4.0%, 조섬유 8.0%, 조회분 8.0%, Ca 0.8%, P 1.0%으로 구성되었으며, 후기 사료는 조단백질 18.5%, lysine 1.08%, 대사 에너지 3.20 Mcal/kg, 조지방 4.0% 조섬

유, 8.0%, 조회분 8.0%, Ca 0.9% 및 P 0.75%가 함유되도록 배합하였다. 시험 사료는 매일 일정량 무게를 측정하여 닭이 충분히 먹을 수 있도록 자유 급여하고, 음수는 자동 니플기로서 급여하였다. 사양 관리는 경남과학기술대학교 부속 동물사육장의 관행에 준하여 여름철 고온기(8월 1일~9월 6일)에 33일간 케이지에서 사육하였다. 철망 케이지는 가로 90 cm, 세로 90 cm, 높이 66 cm의 크기로서 앞부분에 사료 통이 달려 있고, 뒷부분에 자동 음수 장치가 부착된 형태이다. 점등은 전 사양 기간 동안 24시간 종일 전등을 실시하였고, 계사 온도는 일령별로 32°C에서 24°C까지 사육실 온도 관리 프로그램에 따라 환기량을 조절하였다. 본 시험 동안 실제 계사 온도를 측정된 결과는, 35~28°C로 조사되었다.

### 3. 시험 분석 항목 및 방법

#### 1) 사양 성적 및 조직 샘플

육계 품종(Ross vs. Cobb)별 하절기 사육 밀도(표준 밀도구, 0.046 m<sup>2</sup>/두 vs. 고밀도구, 0.023 m<sup>2</sup>/두)에 따른 사육 기간별 생산성을 조사하기 위해 체중은 시험 개시, 21일령 및 35일령에 각각 측정하여 증체량을 조사하고 사료 요구율은 사육 기간 별 평균 섭취량을 측정하여 평균 증체량으로 나누어 계산하였다. 이어서 각 처리구별 평균 체중에 가까운 6수(n=6)를 선택하여 혈액, 간, 비장 등을 채취하고, 장기는 체중 100 g당 상대적 무게로 나타내었다. 모든 샘플은 액체 질소에 냉동하여 -70°C에서 분석 시까지 보관하였다.

#### 2) 혈중 Corticosterone 분석

각 처리군 별(n=6) 혈장에서 스트레스 호르몬인 corticosterone 수준은 corticosterone EIA kit(Catalog No ADI-901-097, Enzo Life Science)을 이용하여 회사의 권장법에 따라 ELISA (Vmax, Molecular Device Co.)로서 405 nm에서 분석하였다.

#### 3) 면역 장기에서 친염증 Cytokine 및 항산화 효소 mRNA 분석

##### (1) 조직에서 RNA 분리

각 처리군 별(n=6)로 선택한 공시동물의 조직으로부터 RNAsol™kit(TEL-TEST, INC)을 이용하여 total RNA를 추출하였다. 조직을 RNazol 용액에서 균질화한 후 chloroform을 혼합한 후 원심분리하고, 2-propanol을 혼합하여 RNA를 침전시켜 분리하며 분리된 RNA를 이용하여 즉시 cDNA를 합성하였다.

##### (2) Quantitative Real Time-PCR(qRT-PCR)을 이용한 mRNA 발현

친염증 사이토카인으로 interleukin-1β(IL-1β), IL-6, IL-18, interferon-γ(IFN-γ), 항산화 효소로서 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase(GPX), catalase(CAT) 등의 mRNA 발현을 분석하였다. Real-time PCR은 MyiQ(Bio-Rad, USA)을 이용하여 다음과 같은 방법으로 실시하였다. qRT-PCR을 위한 각 유전자의 primer의 정보는 Table 1에 제시한 바와 같다. PCR 반응물은 cDNA(10 ng) 5 μL, primer(5 pmole)는 각각 0.5 μL, SYBR Green 10 μL, ddH<sub>2</sub>O 4 μL를 넣어 총 20 μL가 되도록 혼합하고, 95°C 3분간 최초 변성을 시킨 다음, 95°C 15초간 변성, 60°C에서 15초간 접합, 72°C 40 초간 확장 과정을 40회 반복 실시하였다. 다시 94°C 1분간 재접합 과정을 거친 후, 55°C에서 1분간 재확장 과정을 실시하였다. 최종적으로 55°C에서 0.5°C씩 상승시켜 형광 접합 물질인 SYBR Green이 분리되어 나오는 마지막 과정을 실시하였다. Internal (housekeeping) 유전자로서 RPL27(Ribosomal protein L27)을 모든 샘플에서 증폭하여 각 유전자의 상대적 발현량을 비교하여 정량하였으며, 유전자의 상대적 발현량은 ΔCt 값과 2<sup>-ΔΔCt</sup> 방법(Livak and Schmittgen, 2001)으로 표시하였다.

### 4. 통계 분석

육계 품종 및 사육 밀도에 따른 체중, 장기 무게 및 유전자의 mRNA 발현량을 Proc-GLM(SAS, 1996)에 따른 상호작용 효과가 포함된 2×2 요인 분석 모형에 의해 분석되었고, 처리 간 비교는 LSMEANS에 의해 P<0.05 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

## 결 과

### 1. 생산성 및 면역 장기 무게 조사

육계 품종(Ross vs. Cobb) 및 사육 밀도(표준 밀도구, 0.046 m<sup>2</sup>/수 vs. 고밀도구, 0.023 m<sup>2</sup>/수)에 따른 생산성과 면역 장기 무게를 관찰한 결과는 Tables 2와 3에 각각 제시하였다. 사육 전기(3~21 일령) 및 후기(22~35 일령)의 체중, 증체량, 사료 섭취량 및 사료 요구율은 품종에 따른 차이는 없으므로 나타내지 않았다(Table 2). 전체 사육 기간(3~35 일령)에서도 이들 생산성 지표는 육계의 품종에 따른 영향이 없으므로 관찰되었다. 한편, 사육 밀도에 따른 사양 성적을 살펴보면, 사육 전기부터 후기까지 Ross 및 Cobb 두 품종 모두 고밀도 사육구(HD)에서 표준 밀도구(SD)에 비해 체중과 사료 섭취량이 유의적으로 감소하였으나(P<0.05), 사료 요구율은 차

**Table 1.** The primer sequences used for qRT-PCR

Item*	Direction	Sequence(5' to 3')	Size(bp)
IL-1 $\beta$	Forward	TTC ATT ACC GTC CCG TTG	121
	Reverse	GCT TTT ATT TCT CCA GTC ACA	
IL-6	Forward	GGT GAT AAA TCC CGA TGA AGT	140
	Reverse	TCT CCA TAA ACG AAG TAA AGT CTC	
IL-18	Forward	AGC GTC CAG GTA GAA GAT AA	122
	Reverse	AAT ATG ATG TTA CTT TCA CCA GGA	
IFN- $\gamma$	Forward	ACA GGC AAA CAA TGG AAG T	96
	Reverse	CAG GTC AAC AAA CAT ACA ACA G	
SOD	Forward	AGG GGG TCA TCC ACT TCC	122
	Reverse	CCC ATT TGT GTT GTC TCC AA	
GPX	Forward	TTG TAA ACA TCA GGG GCA AA	140
	Reverse	TGG GCC AAG ATC TTT CTG TAA	
CAT	Forward	GGG GAG CTG TTT ACT GCA AG	139
	Reverse	TTT CCA TTG GCT ATG GCA TT	
RPL27	Forward	CAG CAA TGG GCA AGA AGA	81
	Reverse	GCA TCA GGT GGT TGT AGT T	

\* Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-18, interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ), superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPX), catalase(CAT) and ribosomal protein L27(RPL27).

**Table 2.** Effects of strain and stocking density on body weight, feed intake and feed conversion ratio in broiler chickens

Item	Treatment				Pooled SE	Significance ( <i>P</i> -value)		
	Ross		Cobb			Strain	Density	S*D
	SD	HD	SD	HD				
BW (g) (3 d)	33.04	32.91	33.48	32.80	0.79	0.53	0.12	0.29
BW (g)(21 d)	956.40	821.33	931.60	824.60	53.10	0.53	0.0001	0.42
Gain (g) (3~21 d)	923.36	788.42	898.12	791.80	53.02	0.52	0.0001	0.41
Feed (g) (3~21 d)	1,130.96	999.42	1,104.36	1,037.66	66.47	0.79	0.0001	0.14
Feed: gain (3~21 d)	1.23	1.27	1.23	1.31	0.09	0.38	0.06	0.58
BW (g) (35 d)	2,106.40	1,897.89	2,009.20	1,896.80	121.95	0.22	0.0002	0.23
Gain (g) (22~35 d)	1,150.00	1,076.56	1,077.60	1,072.20	109.25	0.28	0.27	0.34
Feed intake (122~35 d)	1,772.16	1,667.04	1,790.52	1,712.60	145.41	0.50	0.05	0.77
Feed: gain (22~35 d)	1.55	1.55	1.66	1.60	0.17	0.18	0.41	0.70
Gain (g) (3~35 d)	2,073.36	1,864.98	1,975.72	1,864.00	122.01	0.22	0.0002	0.23
Feed intake (3~35 d)	2,903.12	2,666.47	2,894.88	2,750.26	184.67	0.53	0.003	0.44
Feed: gain (3~35 d)	1.40	1.43	1.47	1.48	0.11	0.14	0.71	0.91

SD (Standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/head), HD (High stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/head).

The level of probability for statistical difference was considered at *P*<0.05 (n=10).

S\*D indicated interaction between strain(S) and stocking density(D).

이가 없었다.

체중에 따른 면역 장기(간과 비장)의 상대적 무게는 품종에 따른 유의적 차이를 보이는 것으로 관찰되었으며( $P<0.05$ ), 특히 Ross종은 Cobb종보다 이들 장기의 무게가 현저히 높은 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 한편, 사육 밀도에 따른 간과 비장의 무게는 차이가 없었다(Table 3).

2. 혈액 Corticosterone 조사

육계 품종 및 사육 밀도가 혈액 corticosterone 농도에 미치는 영향은 Table 4에서 나타난 바와 같다. Ross 및 Cobb 품종 모두 고밀도 사육구(HD)에서 corticosterone 농도가 수치상 증가되었으나, 개체별 변이가 커서 통계적 유의차는 없었다. 또한 통계적 차이 없이 Cobb 품종이 Ross 품종보다 고밀도 사육에 따른 corticosterone 농도가 증가되는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 보아 품종과 사육 밀도에 따른 스트레스 정도는 개체별로 상당한 변이를 가지며, 본 실험에서 설정한 사육 밀도가 육계의 스트레스 호르몬 농도를 증가시키지는 않는 것으로 나타났다.

3. 친염증 사이토카인 및 항산화 효소 mRNA 발현 조사

육계 품종 및 사육 밀도에 따른 간과 비장 조직에서 친염증 사이토카인과 항산화 효소의 mRNA 발현 양상은 각각

Table 5와 6에 제시하였다. 먼저 간 조직에서 친염증 사이토카인(IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 및 IFN- $\gamma$ ) mRNA 발현은 품종에 따른 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 5). 사육 밀도에 따른 이들 사이토카인 mRNA 발현 역시 차이가 없었다. 한편, 항산화 유전자인 GPX mRNA 발현은 품종에 따라 현저한 반응의 차이를 보였으며( $P<0.05$ ), Ross종에서 Cobb종보다 GPX mRNA 발현이 낮은 것으로 나타났다. 사육 밀도 요인에 따른 차이를 보면, SOD, GPX 및 CAT의 mRNA 유전자 발현이 모두 고밀도 사육구(HD)에서 현저히 증가되었으며( $P<0.05$ ), Ross종에서 Cobb종보다 고밀도 사육에 따른 반응의 차이가 큰 것으로 관찰되었다.

비장 조직에서 조사한 대부분의 친염증 사이토카인은 품종 및 사육 밀도에 따른 차이가 없었으나, IL-1 superfamily 계열인 IL-18 mRNA 발현은 고밀도 사육 시 Cobb종에서 유의하게 발현이 감소( $P<0.05$ )되었다(Table 6). 한편 항산화 효소의 mRNA 발현을 조사한 결과, SOD와 CAT 효소는 품종 및 사육 밀도 요인에 따라 모두 유의적인 차이가 있었다( $P<0.05$ ). Ross종은 고밀도 사육에서 SOD와 CAT mRNA 발현이 감소되었으나, Cobb 종에서는 오히려 고밀도 사육에서 이들 효소의 발현이 증가되는 것으로 나타나, 두 품종에서 서로 다른 반응 양상을 보였다. 한편, IL-6, IL-18, SOD, GPX 및 CAT에서 품종과 사육 밀도에 따른 상호작용 효과도 관

**Table 3.** Effects of strain and stocking density on the relative immune organ weights in broiler chicks

Item	Treatment				Pooled SE	Significance (P-value)		
	Ross		Cobb			Strain	Density	S <sup>†</sup> D
	SD	HD	SD	HD				
BW (g) (35 d)	2,106.40	1,897.89	2,009.20	1,896.80	121.95	0.22	0.0002	0.23
Liver (g/100g BW)	2.70	2.42	2.13	2.11	0.46	0.006	0.32	0.40
Spleen (g/100g BW)	0.13	0.14	0.11	0.09	0.04	0.016	0.67	0.24

SD (Standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/head), HD (High stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/head).  
 The level of probability for statistical difference was considered at  $P<0.05$ (n=6).  
 S<sup>†</sup>D indicated interaction between strain(S) and stocking density(D).

**Table 4.** Effects of strain and stocking density on plasma corticosterone level in broiler chickens

Item	Treatment				Pooled SE	Significance (P-value)		
	Ross		Cobb			Strain	Density	S <sup>†</sup> D
	SD	HD	SD	HD				
Corticosterone, ng/ml	2.82	3.79	2.92	5.37	3.52	0.57	0.25	0.61

SD (Standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/head), HD (High stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/head).  
 The level of probability for statistical difference was considered at  $P<0.05$ (n=6).  
 S<sup>†</sup>D indicated interaction between strain(S) and stocking density(D).

**Table 5.** Effects of strain and stocking density on mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and antioxidant enzymes using qRT-PCR in the liver of broiler chickens

Item	Treatment								Pooled SE	Significance ( <i>P</i> -value)		
	Ross				Cobb					Strain	Density	S*D
	SD		HD		SD		HD					
	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct				
IL-1 $\beta$	7.81	1	7.59	1.14	6.75	1	8.33	0.74	1.96	0.82	0.34	0.20
IL-6	11.73	1	12.09	0.78	11.54	1	12.05	0.71	2.19	0.89	0.59	0.93
IL-18	6.94	1	6.92	1.01	7.79	1	7.63	1.11	1.57	0.18	0.87	0.90
IFN- $\gamma$	10.16	1	10.74	0.66	9.56	1	10.69	0.45	1.35	0.51	0.10	0.57
SOD	6.20	1	4.71	2.82	5.24	1	5.05	1.15	0.69	0.21	0.002	0.01
GPX	11.53	1	9.44	4.25	9.04	1	8.57	1.39	1.39	0.001	0.009	0.09
CAT	7.36	1	5.05	4.95	7.14	1	5.70	2.72	1.01	0.56	0.0001	0.23

SD (Standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/head), HD (High stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/head).

The level of probability for statistical difference was considered at  $P < 0.05$  (n=6).

S\*D indicated interaction between strain(S) and stocking density(D).

# The values are  $\Delta$ Ct, which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (RPL27). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the  $2^{-\Delta\Delta$ Ct.

**Table 6.** Effects of strain and stocking density on mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and antioxidant enzymes using qRT-PCR in the spleen of broiler chickens

Item	Treatment								Pooled SE	Significance ( <i>P</i> -value)		
	Ross				Cobb					Strain	Density	S*D
	SD		HD		SD		HD					
	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct				
IL-1 $\beta$	7.44	1	8.26	0.57	7.95	1	7.28	1.58	1.22	0.61	0.87	0.12
IL-6	9.63	1	11.05	0.38	11.19	1	10.30	1.86	1.50	0.47	0.63	0.04
IL-18	3.76	1	3.76	1.0	3.05	1	5.31	0.21	0.81	0.17	0.006	0.0006
IFN- $\gamma$	8.83	1	8.78	1.03	9.12	1	8.50	1.54	1.63	0.99	0.58	0.63
SOD	3.70	1	9.06	0.02	9.40	1	8.47	1.91	0.85	0.001	0.0001	0.0001
GPX	8.91	1	10.17	0.42	10.00	1	8.15	3.61	1.53	0.42	0.42	0.01
CAT	4.61	1	10.17	0.02	6.70	1	4.72	3.94	1.33	0.002	0.002	0.001

SD (Standard stocking density, 0.046 m<sup>2</sup>/head), HD (High stocking density, 0.023 m<sup>2</sup>/head).

The level of probability for statistical difference was considered at  $P < 0.05$  (n=6).

S\*D indicated interaction between strain(S) and stocking density(D).

# The values are  $\Delta$ Ct, which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (RPL27). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the  $2^{-\Delta\Delta$ Ct.

찰되었다( $P < 0.05$ ).

## 고 찰

본 연구에서 Ross와 Cobb 품종 모두 고밀도 사육구에서

표준 밀도구에 비해 체중, 증체 및 사료 섭취량이 현저히 감소되었으나, 품종 간 이들 생산성 지표의 차이는 없었다. 사육 밀도가 육계의 생산성에 미치는 본 실험의 결과는 지금까지 실시된 선행 연구들과 거의 일치한다(Beloor et al., 2010;

Zuowei et al., 2011). An et al.(2012) 등은 육계(Ross)를 표준 밀도구(495 cm<sup>2</sup>/수)와 고밀도구(245 cm<sup>2</sup>/수)에 사육 시 사료 요구율을 제외한 체중 및 사료 섭취량이 고밀도 사육구에서 현저히 감소하였음을 보고하였다. 또한 많은 연구에서 사육 밀도가 증가되면, 증체는 감소되는 것으로 사육 밀도와 닭의 성장은 역의 상관관계가 있음이 보고되었다. Feddes et al.(2002) 연구에 의하면, 사육 밀도(23.8, 17.0, 14.3, 11.9 수/m<sup>2</sup>)에 따른 42일령 육계의 생산성을 조사한 결과, 밀도가 가장 높은 23.8 수/m<sup>2</sup>에서 체중이 제일 낮았으며, 14.3 수/m<sup>2</sup>에서 체중이 높았다. 그러나 육계의 품종에 따른 체중과 같은 생산성의 변화는 연구자와 사육 환경에 따라 다소 상이한 결과를 보이고 있다. 최근 Sakomura et al.(2011)는 Ross(2,142 g)와 Cobb(2,193 g)을 5주 동안 사육 시 비슷한 체중과 증체율을 보였다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구의 표준 밀도구에서 Ross와 Cobb종 모두 5주령 체중이 비슷한 것과 일치한다. 한편, Gonzales et al.(1998)은 사육 온도 스트레스가 거의 없는 조건에서 Ross종이 Cobb종보다 체중 및 증체율이 증가하였다고 보고하였고, Suliaman et al.(2012)은 열 스트레스 하에서도 Ross종이 Cobb종보다 체중 및 증체율이 높은 것으로 보고하였다. 그러나 Sterling et al.(2006)은 Ross종이 Cobb종보다 체중 및 증체율이 현저히 감소하였으며, 증체는 섭취하는 사료의 조단백질과 lysine 함량에 따라 달라진다고 보고하였다. 특히, 사료 내 조단백질 17%에서 lysine 0.8% 이하에서는 Cobb종이 Ross에 비해 빠른 증체를 보이지만, 조단백질 17%, lysine 0.8% 이상에서는 두 품종이 비슷한 증체를 보인다고 하여 급여하는 사료 단백질의 품질이 품종 간 성장률에 유의적 영향을 미치는 것으로 보고하였다 (Sterling et al., 2006). 본 실험에서 사육 후기에 조단백질 18%, lysine 함량 1.08% 사료를 급여한 것도 두 품종이 비슷한 증체를 보인 원인이 될 수 있을 것으로 해석된다.

품종 간 장기 무게를 조사한 결과, 본 연구는 Ross 종이 Cobb보다 간과 비장의 상대적 무게는 유의적으로 증가되었으나, 사육 밀도에 따른 면역장기의 무게는 차이가 없었다. Wijtten et al. (2010)는 Ross와 Cobb에서 소장의 무게는 차이가 없었지만, 심장의 무게는 Ross종이 Cobb종보다 현저히 크다고 보고하였다. 그러나 Cheema et al.(2003)은 Ross와 Cobb사이에 비장, 흉선과 F-낭의 무게는 품종간 차이가 없었고, 사료의 단백질 수준(18.1% vs. 21.9%)에 따른 영향도 받지 않는 것으로 보고하여 본 연구 결과와 다소 차이가 있었다. 지금까지 연구에서 혈액 corticosterone 수준은 스트레스 지표로서 스트레스 반응과 면역 작용과 밀접한 상관이 있다고 보고되고 있다(Fahey and Cheng, 2008). 그러나 여러

연구에서 비록 고밀도 사육이 닭에서 이상 행동을 유발하지만(Platz et al., 2009; Zimmerman et al., 2006), 매우 심한 고밀도 사육이 아니면 혈액 corticosterone 수준의 증가를 초래하지 않는 것으로 보고하였다(Nicol et al., 2006). Cheng and Muir (2004)는 산란계를 케이지에 1수를 수용한(525 cm<sup>2</sup>/bird) 경우와 케이지에 10수(419 cm<sup>2</sup>/bird)를 수용하여 corticosterone 수준을 조사한 결과, 여러 마리의 닭이 수용된 케이지에서 이 지표가 가장 높았다고 보고하였다. 이러한 결과처럼 단순한 사육 밀도의 높고 낮음보다는 사육 밀도와 더불어 사회적 스트레스로서 투쟁, 위협, 절식 등의 여러 스트레스 요인이 동시에 작용할 때 스트레스 호르몬이 증가되는 것으로 보인다(Munck et al. 1984). 사육 밀도가 스트레스 반응에 미치는 영향에 대한 연구는 많이 보고되지만, 사육 밀도에 따라 심장, 비장, F-낭, 흉선 등의 장기 무게가 일부 감소되는 경우(Pesti and Howarth, 1983; Dafwang et al., 1987)와 변화가 없는 경우(Kang et al., 2011) 등 그 결과는 실험설계에 따라 다소 차이를 보이고 있다.

많은 연구에서 면역 작용은 닭의 품종(Cheema et al., 2003; Emam et al., 2014; Qureshi and Miller, 1991) 및 사육 밀도(Beloor et al., 2010; Kang et al., 2011; Patterson and Siegel, 1998) 등에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Imaeda (2000)는 사육 밀도(12, 15 및 18 수/m<sup>2</sup>)가 생산성에는 유의적 영향을 미치지 않았으나, 급사병은 사육 밀도와 밀접한 관계가 있음을 보고하여 사육 밀도가 닭의 스트레스 및 면역 작용과 연관성 높다는 사실을 증명하였다. 또한 닭에서 사육시설과 사육 밀도가 혈액 IgG 농도와 같은 면역 기능에 영향을 미칠 수 있음을 보고하여(Pohle and Cheng, 2009), 닭은 각종 외적 스트레스 요인에 대응하여 면역 작용의 조절을 통해 체내 항상성을 유지한다(Shini et al., 2010). 따라서 본 실험은 면역 관련 친염증 사이토카인을 비림프 면역 기관(간)과 림프 면역 기관(흉선)에서 조사하였다. 특히 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$  등과 같은 친염증 사이토카인은 간과 비장 등 면역 조직에 널리 발현되는 것으로 면역 염증 작용에 중요한 역할을 한다(Hong et al., 2006; Kaiser et al., 2009). 본 연구 결과, 사육 밀도에 따라 Cobb종에서 비장의 IL-18 발현이 유의적인 차이를 보였지만, 대부분의 친염증 사이토카인 mRNA 발현은 품종과 사육 밀도에 따라 특이적 영향을 받지 않았다. 이러한 이유로서 육계를 35일령 동안 장기 사육하면서 이미 닭들이 사육 밀도 스트레스에 적응하여 이들 사이토카인 발현에 영향을 거의 미치지 않았다고 생각할 수 있다. 또한 본 실험에서 설정한 사육 밀도가 닭의 면역 작용에 영향을 미칠 수준이 아니었던 것으로도 추측할 수

있다. 본 연구 결과와 유사하게 Thaxton et al.(2006)은 육계를 다양한 사육 밀도(20, 25, 30, 35, 40, 45 및 55 kg/BW)에서 사육 시 세포 신호 전달 물질인 산화질소와 면역 지표(호중구 : 림프구 비율)을 조사한 결과, 사육 밀도가 이들 지표에는 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 본 실험 설계와 유사하게 Dozier et al.(2005)과 Thaxton et al.(2006)은 0.075 ~ 0.0278 m<sup>2</sup>/수 사육 밀도 범위에서는 스트레스로 인한 생리적 지표에 미치는 영향은 거의 없었다고 보고하였다. 또한 Turkyilmaz(2008)은 육계에서 0.04 m<sup>2</sup>/수, 0.05 m<sup>2</sup>/수, 0.067 m<sup>2</sup>/수의 사육 밀도 조건에서 스트레스 반응을 조사한 결과, 호중구 : 림프구 비율, corticosterone, Newcastle disease 항체 반응에서 차이가 없었다고 보고하였다. 그러나 지나치게 과도한 사육 밀도는 스트레스 지표 및 면역 작용에 부정적 영향을 미치고, 닭에서 생산성 저하와 이상 행동을 유발하는 것으로 보고되어, 동물 복지 측면에서도 적절한 사육 밀도를 유지하는 것이 중요하다(Kang et al., 2011; Zimmerman et al., 2006).

육계에서 사육 밀도가 항산화 방어 작용에 영향을 미치는 연구는 드문 실정이지만, 최근 Macro-Ramell et al.(2011)이 본 연구처럼 돼지를 적정 사육 밀도(0.50 m<sup>2</sup>/두)와 고밀도 사육구(0.25 m<sup>2</sup>/두)에서 항산화 체계를 조사한 결과, 고밀도 사육구에서 혈액의 산화 단백질(craponyl protein) 함량과 GPX 활성도가 현저히 증가되었음을 보고하였다. 본 시험에서도 간에서 SOD, GPX 및 CAT와 같은 효소는 사육 밀도에 따라 유의적으로 증가되는 것으로 나타나, 위의 연구 결과와 유사하였다. 물고기에서도 고밀도 사육구에서 항산화 비타민 E를 급여한 경우, 면역 세포의 활성도를 증가시켜 스트레스 관련 면역 저하를 예방할 수 있음이 입증되었다(Belo et al., 2005). 이와 같이 동물이 심한 스트레스에 노출되었을 때, 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)의 발생이 증가되고, 항산화 방어 체계에 문제가 발생된다는 사실이 보도되었다(Lykkefeldt and Svendsen, 2007). 육계에서 하절기 고밀도 사육에 따라서 유발될 수 있는 스트레스로서 가장 유력한 것이 체내 열 생산 증가 및 방출의 어려움으로 열 스트레스에 더욱 쉽게 노출될 수 있다는 것이다. 연구에 따르면, 만성적 열 스트레스는 닭에서 활성산소 생산과 항산화 방어 체계의 균형에 심각한 영향을 초래한다(Lin et al., 2008). 결국 고온기 밀사 조건에 따른 열 대사 스트레스는 heat shock proteins (HSP)의 발현에 영향(An et al., 2012)을 미쳐 궁극적으로 항산화 방어 작용에 영향을 미친다(Ananthan et al., 1989). Bhusari et al.(2008)은 만성 열 스트레스는 간 조직의 SOD와 catalase 발현을 증가시키는데, 이는 열 대사 작용에 따라

증가된 활성산소가 간 조직의 항산화 효소의 활성도를 증가시켰기 때문으로 해석하였다. Yang et al. (2010)도 닭이 열 스트레스를 받을 경우, 활성산소, 지질과산화, SOD, CAT와 GPX 등의 활성이 증가된다고 보고하였다.

한편, 유전적 요인이 항산화 체계에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않았지만, 지금까지 육계에서 주로 급사병과 관련된 폐의 고혈압 증후군(Pulmonary hypertension syndrome, PHS)와 연관하여 보고되고 있다. 육계의 PHS 감수성은 유전 및 영양 요인에 따라 많은 영향을 받므로 품종, 성장률, 사료이용성에 따라 반응 정도가 달라진다(Iqbal et al., 2002). 본 연구에서는 체내에서 가장 중요한 대사 기관인 간에서 항산화 방어 작용에 관여하는 효소의 품종 간 발현 차이는 PHS에 의한 급사병 예방과 질병 저항성에 중요한 지표로 사용될 수 있으며, Ross가 Cobb종에 비해 간에서 고밀사 사육 시 이들 효소의 발현이 증가되는 것으로 나타났다. 본 연구 결과와 유사하게 Altan et al.(2003)은 Ross와 Cobb 종에서 각각 열 스트레스를 가했을 때, Ross 종에서 혈액의 SOD, CAT 및 GPX 활성도가 증가되는 것으로 보고하였다. 한편, 비장에서 품종 간 유의적인 차이가 관찰되었으나, Cobb종에서 고밀도 사육에서 다소 발현이 증가되는 것으로 나타나, 품종 및 장기에 따라 발현율에 차이가 있었다. Iqbal et al.(2002) 연구에 따르면, 육계에서 PHS 민감 계통 및 비만감 계통을 선발하여 육종한 결과, PHS 민감 계통은 폐에서는 낮은 GPX 활성도를 보였으며, 간에서는 이들 계통 간에 GPX 활성도는 차이가 없고, SOD 활성도는 민감 계통에서 현저히 감소하였다고 보고하였다. 이와 같이 닭에서 품종이나 환경 스트레스에 따른 체내 항산화 방어 시스템에 대한 연구는 아직까지 초보적 단계로서 신품종 육계를 육종하는데 필요한 지표로서 이에 대한 연구가 요구된다.

## 적 요

본 실험은 육계 품종(Ross vs. Cobb) 및 사육 밀도(표준 밀도구, 0.046 m<sup>2</sup>/수 vs. 고밀도구, 0.023 m<sup>2</sup>/수)가 생산성, 장기무게, 혈액 corticosterone, 친염증 사이토카인과 항산화 효소의 mRNA 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시하였다. 전체 사육 기간 동안 품종에 따른 생산성 지표들은 차이가 없었으나, 사육 밀도에 따른 사양 성적은 두 품종 모두 고밀도 사육구(HD)에서 표준 밀도구(SD)에 비해 체중과 사료 섭취량이 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). 간과 비장의 상대적 무게는 품종에 따른 유의적 차이가 나타났으나( $P <$



0.05), 사육 밀도에 따른 차이는 없었다. 혈액 corticosterone 농도는 품종 및 사육 밀도에 따른 통계적 차이는 없는 것으로 나타났다. 육계 품종 및 사육 밀도에 따른 친염증 사이토카인과 항산화 효소의 mRNA 발현 양상으로 간 조직에서 이들 사이토카인(IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 및 IFN- $\gamma$ ) mRNA 발현은 품종과 사육 밀도에 따른 차이가 없었다. 한편, 항산화 유전자인 GPX mRNA 발현은 품종에 따라 현저한 반응의 차이를 보였으며( $P<0.05$ ), Ross 품종이 Cobb 품종보다 GPX mRNA 발현이 낮았다. 사육 밀도 요인에 따른 차이를 보면, SOD, GPX 및 CAT의 mRNA 발현이 모두 고밀도 사육구에서 현저히 증가되는 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 비장조직에서 대부분의 친염증 사이토카인은 품종 및 사육 밀도에 따른 차이가 없었으나, IL-18 mRNA 발현은 고밀도 사육 시 Cobb 품종에서 발현이 감소되었다( $P<0.05$ ). 항산화 효소 mRNA 발현은 품종 및 사육 밀도 요인에 따라 SOD와 CAT에서 유의적 차이가 있었다( $P<0.05$ ). 이와 같은 결과로 보아 사양 성적은 육계 품종에 따른 요인에 영향을 받지 않았지만, 사육 밀도는 생산성을 감소시켰다. 친염증 사이토카인의 mRNA 발현은 품종 및 사육 밀도에 따른 차이는 적었으나, 항산화 효소는 품종, 사육 밀도 및 장기조직에 따른 발현의 차이가 나타나 체내 항상성 조절에 중요한 지표로서 지속적인 연구가 요구된다.

## 사 사

본 논문은 농진청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ-007981) 및 경남과학기술대학교 동물생명산업센터(RAIC) 지원에 의해 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Albentosa MJ, Kjaer JB, Nicol CJ 2003 Strain and age differences in behaviour, fear response and pecking tendency in laying hens. *Br Poult Sci* 44(3):333-344.
- Altan O, Pabuccuoglu A, Altan A, Konyalioglu S, Bayraktar H 2003 Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *Br Poult Sci* 44(4):545-550.
- An YS, Park JG, Jang IS, Sohn SH, Moon YS 2012 Effects of high stocking density on the expressions of stress and lipid metabolism associated genes in the liver of chicken. *J Life Sci* 22(12):1672-1679.
- Ananthan J, Goldberg AL, Voellmy R 1989 Abnormal proteins serve as eukaryotic stress signals and trigger the activation of heat shock genes. *Science* 232:522-524.
- Belo MA, Schalch SH, Moraes FR, Soares VE, Otoboni AM, Moraes JE 2005 Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. *J Comp Pathol* 133:146-154.
- Belo J, Kang HK, Kim YJ, Subramani VK, Jang IS, Sohn SH, Moon YS 2010 The effect of stocking density on stress related genes and telomeric broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 23:437-443.
- Bhusari S, Hearne LB, Spiers DE, Lamberson WR, Antonioui E 2008 Transcriptional profiling of mouse liver in response to chronic heat stress. *J Thermal Biol* 33:157-167.
- Cheema MA, Qureshi MA, Havenstein GB 2003 A comparison of the immune profile of commercial broiler strains when raised on marginal and high protein diets. *Int J Poult Sci* 2(5):300-312.
- Cheng HW, Muri WM 2004 Chronic social stress differentially regulates neuroendocrine response in laying hens: II. Genetic basis of adrenal responses under three different social conditions. *Psychoneuroendocrinology* 29:961-971.
- Dafwang II, Cook ME, Sunde ML 1987 Interaction of dietary antibiotic supplementation and stocking density on broiler chick performance and immune response. *Br Poult Sci* 28(1):47-55.
- De Haas EN, Kemp B, Bolhuis JE, Groothuis T, Rodenburg TB 2013 Fear, stress and feather pecking in commercial white and brown laying hen parent-stock flocks and their relationships with production parameters. *Poult Sci* 92(9):2259-2269.
- Dozier WA 3rd, Thaxton JP, Branton SL, Morgan GW, Miles DM, Roush WB, Lott BD, Vizzier-Thaxton Y 2005 Stocking density effects on growth performance and processing yields of heavy broilers. *Poult Sci* 84(8):1332-1338.
- Emam M, Mehrabani-Yeganeh H, Barjesteh N, Nikbakht G, Thompson-Crispi K, Charkhar S, Mallard B 2014 The influence of genetic background versus commercial breeding programs on chicken immunocompetence. *Poult Sci* 93(1):77-84.
- Fahey AG, Cheng HW 2008 Effects of social disruption on

- physical parameter corticosterone concentrations, and immune system in two genetic lines of White Leghorn layers. *Poult Sci* 87(10):1947-1954.
- Feddes JJ, Emmanuel EJ, Zuidhof MJ 2002 Broiler performance, body weight variance, feed and water intake and carcass quality at different stocking densities. *Poult Sci* 81(6):774-779.
- Fraisse F, Cockrem JF 2006 Corticosterone and fear behaviour in white and brown caged laying hens. *Br Poult Sci* 47(2):110-119.
- Gilbert ER, Cox CM, Williams PM, McElroy AP, Dalloul RA, Ray WK, Barri A, Emmerson DA, Wong EA, Webb KE Jr 2011 *Eimeria* species and genetic background influence the serum protein profile of broilers with coccidiosis. *PLoS One* 6(1):e14636.
- Gonzales E, Buyse J, Takita TS, Sartori JR, Decuyper E 1998 Metabolic disturbances in male broilers of different strains. I. Performance, mortality and right ventricular hypertrophy. *Poult Sci* 77(11):1646-1653.
- Hangalapura BN, Kaiser MG, Poel JJ, Parmentier HK, Lamont SJ 2006 Cold stress equally enhances *in vivo* proinflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Dev Comp Immunol* 30(5):503-511.
- Hong YH, Lillehoj HS, Lee SH, Park DW, Lillehoj EP 2006 Molecular cloning and characterization of chicken lipopolysaccharide-induced TNF- $\alpha$  factor(LITAF). *Dev Comp Immunol* 30(10):919-929.
- Imaeda N 2000 Influence of the stocking density and rearing season on incidence of sudden death syndrome in broiler chickens. *Poult Sci* 79(2):201-204.
- Iqbal M, Cawthon D, Beers K, Wideman RF Jr, Bottje WG 2002 Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome(PHS) in broilers. *Poult Sci* 81(2):252-260.
- Jang IS, Ko YH, Moon YS, Sohn SH 2014 Effects of vitamin C or E on the pro-inflammatory cytokines, heat shock protein 70 and antioxidant status in broiler chicks under summer conditions. *Asian Aust J Anim Sci* 27(5):749-756.
- Kaiser MG, Block SS, Ciraci C, Fang W, Sifri M, Lamont SJ 2012 Effects of dietary vitamin E type and level on lipopolysaccharide-induced cytokine mRNA expression in broiler chicks. *Poult Sci* 91(8):1893-1898.
- Kaiser P, Wu Z, Rothwell L, Fife M, Gibson M, Poh TY, Shini A, Bryden AW, Shini A 2009 Prospects for understanding immune-endocrine interactions in the chicken. *Gen Comp Endocrinol* 163:83-91.
- Kang SH, Ko YH, Moon YS, Sohn SH, Jang IS 2011 Effects of the combined stress induced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Aust J Anim Sci* 24(3):414-420.
- Kang SH, Ko YH, Moon YS, Sohn SH, Jang IS 2013 Effects of housing systems on physiological and immunological parameters in laying hens. *J Anim Sci Tech* 55(2):131-139.
- Lin H, de Vos D, Decuyper E, Buyse J 2008 Dynamic changes in parameters of redox balance after mild heat stress in aged laying hens. *Comp Biochem Physiol Part C* 147:30-35.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis is of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-DDCT</sup> method. *Methods* 25:402-408.
- Lykkesfeldt J, Svendsen O 2007 Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *Vet J* 173(3):502-511.
- Mack LA, Felver-Gant JN, Dennis RL, Cheng HW 2013 Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult Sci* 92(2):285-294.
- Marco-Ramell A, Pato R, Peña R, Saco Y, Manteca X, Ruiz de la Torre JL, Bassols A 2011 Identification of serum stress biomarkers in pigs housed at different stocking densities. *Vet J* 190(2):e66-71.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ 1984 Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 5:25-44.
- Nicol CJ, Brown SN, Glen E, Pope SJ, Short FJ, Warriss PD, Zimmerman PH, Wilkins LJ 2006 Effects of stocking density, flock size and management on the welfare of laying hens in single-tier aviaries. *Br Poult Sci* 47(2):135-146.
- Patterson PH, Siegel HS 1998 Impact of cage density on pullet performance and blood parameters of stress. *Poult Sci* 77(1):32-40.

- Pesti GM, Howarth B 1983 Effects of population density on the growth, organ weights and plasma corticosterone of young broiler chicks. *Poult Sci* 62(6):1080-1083.
- Platz S, Heyn E, Hergt F, Weigl B, Erhard M 2009 Comparative study on the behaviour, health and productivity of laying hens in a furnished cage and an aviary system. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 122:235-240.
- Pohle K, Cheng HW 2009 Comparative effects of furnished and battery cages on egg production and physiological parameters in White Leghorn hens. *Poult Sci* 88(10):2042-2051.
- Puvadolpirod S, Thaxton JP 2000 Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and metabolism. *Poult Sci* 79:383-390.
- Qureshi MA, Miller L 1991 Comparison of macrophage function in several commercial broiler genetic lines. *Poult Sci* 70(10):2094-2101.
- Sakomura NK, Gous RM, Marcato SM, Fernandes JB 2011 A description of the growth of the major body components of 2 broiler chicken strains. *Poult Sci* 90(12):2888-2896.
- Shini S 2003 Physiological responses of laying hens to the alternative housing system. *Int J Poult Sci* 2:357-360.
- Shini S, Shini A, Kaiser P 2010 Cytokine and chemokine gene expression profiles in heterophiles from chickens treated with corticosterone. *Stress* 13(3):185-194.
- Singh R, Cook N, Cheng KM, Silversides FG 2009 Invasive and noninvasive measurement of stress in laying hens kept in conventional cages and in floor pens. *Poult Sci* 88(7):1346-1351.
- Sohn SH, Cho EJ, Park DB, Jang IS, Moon YS 2014 Comparison of stress response between Korean native chickens and single comb White Leghorns subjected to a high stocking density. *Kor J Poult Sci* 41(2):115-125.
- Soleimani AF, Zulkifli I, Omar AR, Raha AR 2011 Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poult Sci* 90(7):1435-1440.
- Suliaman RHO, Malik HEE, Yousif IA 2012 Effect of dietary protein level and strain on growth performance of heat stressed broiler chicks. *Int J Poult Sci* 11(10):649-653.
- Sterling KG, Pesti GM, Bakalli RI 2006 Performance of different broiler genotypes fed diets with varying levels of dietary crude protein and lysine. *Poult Sci* 85(6):1045-1054.
- Thaxton JP, Dozier WA 3rd, Branton SL, Morgan GW, Miles DW, Roush WB, Lott BD, Vizzier-Thaxton Y 2006 Stocking density and physiological adaptive response of broilers. *Poult Sci* 85(5):819-824.
- Turkyilmaz MK 2008 The effect of stocking density on stress reaction in broiler chickens during summer. *Turk J Vet Anim Sci* 32(1):31-36.
- Uitdehaag KA, Rodenburg TB, van Hierden YM, Bolhuis JE, Toscano MJ, Nicol CJ, Komen J 2008 Effects of mixed housing of birds from two genetic lines of laying hens on open field and manual restraint responses. *Behav Processes* 79(1):13-18.
- Vanhonacker F, Verbeke W 2009 Buying higher welfare poultry products? Profiling Flemish consumers who do and do not. *Poult Sci* 88(12):2702-2711.
- Wijtten PJ, Hangoor E, Sparla JK, Verstegen MW 2010 Dietary amino acid levels and feed restriction affect small intestinal development, mortality and weight gain of male broilers. *Poult Sci* 89(7):1424-1439.
- Yang L, Tan GY, Fu YQ, Feng JH, Zhang MH 2010 Effects of acute heat stress and subsequent stress removal on function of hepatic mitochondrial respiration, ROS production and lipid peroxidation in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol Part C* 151:204-208.
- Yun SH, Moon YS, Sohn SH, Jang IS 2012 Effects of cyclic heat stress or vitamin C supplementation during cyclic heat stress on HSP70, inflammatory cytokines, and the antioxidant defense system in Sprague Dawley rats. *Exp Anim* 61(5):543-553.
- Zimmerman PH, Lindberg AC, Pope SJ, Glen E, Bolhuis JE, Nicol CJ 2006 The effect of stocking density, flock size and modified management on laying hen behavior and welfare in a non-cage system. *Appl Anim Behavi Sci* 101:111-124.
- Zuwei S, Yan L, Yuan L, Jiao H, Song Z, Guo Y, Lin H 2011 Stocking density affects the growth performance of broilers in a sex-dependent fashion. *Poult Sci* 90(7):1406-1415.

(접수: 2014. 8. 18, 수정: 2014. 9. 15, 채택: 2014. 9. 16)