한국가금학회지 제 44권 제 2호, 113~122 (2017)
Korean J. Poult. Sci. Vol.44, No.2, 113~122 (2017)
http://dx.doi.org/10.5536/KJPS.2017.44.2.113

다양한 항생제 대체제의 첨가 급여가 육계의 생산성, 조직 중량, 장내 미생물 균총 및 혈액 특성에 미치는 영향

홍의철[1] · 김동욱[2] · 강환구[1] · 박기태[1] · 전진주[1] · 김현수[1] · 박성복[1] · 김찬호[1] · 김상호[1†]

[1]농촌진흥청 국립축산과학원 가금연구소, [2]농촌진흥청 기술협력국 국제기술협력과

Effect of Supplement of Various Antibiotics Alternatives on Performance, Organ Weight, Cecal Microflora, and Blood Characteristics in Broilers

Eui-Chul Hong[1], Dong-Wook Kim[2], Hwan-Ku Kang[1], Ki-Tae Park[1], Jin-Joo Jeon[1], Hyun-Soo Kim[1], Sung-Bok Park[1], Chan-Ho Kim[1] and Sang-Ho Kim[1†]

[1]*Poultry Research Institute, National Institute of Animal Science, RDA, Pyeongchang 25342, Korea*

[2]*International Technology Cooperation Division, Technology Cooperation Bureau, RDA, Jeonju 54875, Korea*

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effect of dietary supplementation with *Lactobacillus*, medicinal plant extracts, and plant extracts on growth performance, cecal microflora, relative organ weight, and lymphocyte profile in broiler chickens. One hundred broilers (5 wk old) were used and divided into five (treatment) × two (challenged *Salmonella*) groups containing 10 broilers. The treatments were as follows: no antibiotics group (NC), antibiotics group (PC), 0.1% lactic acid bacteria group (LB), 100 ppm medicinal plant extract group (MPE), and 100 ppm herb extract group (HE). A basal diet was formulated as 3,100 kcal/kg ME and 20% CP based on corn and soybean meal. Broilers were fed with the experimental diets with no challenge for 1 wk and with challenge of SG for 2 wk. SG were added in water as 1.0×10^6 cfu/L. Final body weight and weight gain were significantly decreased following challenge with SG ($P<0.05$). However, with the addition of antibiotic alternatives, growth performance was improved and reduction of performance following challenge with SG was lowed compared with that of the NC treatment ($P<0.05$). Coliform bacteria and *Salmonella* but not lactic acid bacteria increased with the addition of antibiotic alternatives ($P<0.05$). *Lactobacillus* increased significantly with the addition of lactic acid bacteria compared with the NC and PC treatments ($P<0.05$). The weight of liver, spleen, and bursa of Fabricius increased with addition of antibiotic alternatives ($P<0.05$). WBC was highly reduced at 4 days after challenge with SG, but was normally maintained thereafter. There was no significant difference in coliform bacteria, *Salmonella*, organ weights, or WBC with the addition of antibiotic alternatives. Finally, *Lactobacillus*, medicinal plant extract, and herb extract can be used as antibiotic alternatives; but one alternative completely can't alternate as antibiotics. Therefore, further studies are needed to investigate the synergistic effects of two or more antibiotic alternatives.

(Key words: broiler, antibiotics alternative, performance, cecal microflora, organ weight)

서 론

장내 감염과 위장의 기능 장애는 가축, 특히 어린 가축에 스트레스를 주는 원인이 되며, 가축의 소장 내 대사 장애를 일으키고(Francis, 2002; Murtaugh et al., 2002), 소장의 기능을 손상시킨다(Nagy et al., 1978; Pie et al., 2004). 그 결과, 가축에서 성장이 지연되고, 사망률 또는 폐사율이 증가한다(Huo et al., 2003; Pallares et al., 2003). 사료 내 항생제는 주로 가축의 소화관 내에서 작용한다. 항생제 사용의 주요 이점은 숙주 면역 반응의 조절(Gaskins et al., 2002)과 소장 내 미생물군의 조성과 증식(Woo et al., 1999; Brisbin et al., 2008)에 작용할 뿐 아니라, 장내 세균성 질병을 조절하는데 효과적이라는 것이다.

지난 수십 년 동안 항생제는 축산업에서 장내 감염을 예방하고, 성장을 촉진시키기 위해 광범위하게 사용되었으며(Shuford and Patel, 2005; Aarestrup and Jenser, 2007), 이것은 전

† To whom correspondence should be addressed : kims2051@korea.kr

세계적으로 농업 경제와 식품 공급에 크게 기여하였다. 그러나 축산물의 항생제 잔류(Mortier et al., 2005; Kozarova et al., 2011)와 항생제 내성 세균의 확산(Williams Smith, 1970; Hayes et al., 2004)으로 항생제의 사용을 제한하기 시작하였으며, EU는 2006년에 성장촉진제로서의 항생제 사용을 전면 금지시켰다. 국내에서도 성장촉진제로서의 항생제 사용이 금지되면서 항생제를 대체할 수 있는 물질에 대한 다양한 연구가 추진되고 있다(Park et al., 2001; Kim et al., 2007; Kim et al., 2008).

현재 전 세계적으로 사용하는 항생제 대체제는 유기산, 효소제, 생균제, 프리바이오틱스, 식물추출물 등이 있다. *Lactobacillus* 균총은 장관 내 군집하면서 건강을 유지시키는 특성을 가지고 있어 흔히 생균제로 이용되고 있다(Klaenhammer et al., 2008). 생균제는 가금 산업에서 성장 촉진제로서의 항생제 사용에 대한 대체제로서 이용된다(Patterson and Burkholder, 2003; O'Bryan et al., 2008; Huyghebaert et al., 2011). 사료 내 *Lactobacillus*의 첨가는 면역 반응을 자극하고(Haghighi et al., 2005; Sato et al., 2009; Brisbin et al., 2011), 소화율을 개선시키며(Gusils et al., 1999; Kim et al., 2012), 생산성을 향상시킨다(Loh et al., 2010; Shim et al., 2012; Askelson et al., 2014). 또한 *Lactobacillus*는 *Campylobacter*(Ghareeb et al., 2012; Neal-McKinney et al., 2012), *Clostridium*(La Ragione et al., 2004) 및 *Salmonella*(Chen et al., 2012; Ghareeb et al., 2012) 군집을 감소시켜 가금 식품 안전성을 높인다.

식물추출물은 프리바이오틱스와 유사하게 특정 미생물의 성장을 촉진시키는 역할을 하는 것으로 널리 알려져 있다(Greathead, 2003). 식물추출물의 정확한 생리학적 기전은 밝혀지지 않고 있으나, Hernandez et al.(2004)은 식물추출물이 장관 내 병원균 증식을 억제시켜 장관을 안정화시키고, 장관을 자극시켜 장관의 면역력을 증가시키며, 소화 효소의 분비를 촉진시키는 등의 기능을 한다고 보고하였다. 또한, Choi et al.(2010)은 동양 의학에서 사용되는 약초들이 영양소 함량이 우수할 뿐 아니라, 약초별로 식욕촉진, 곰팡이 생육억제, 항산화, 면역기능 강화, 스트레스 완화 및 대사조절의 기능을 가지고 있다고 하였다. 이러한 약용식물은 원료로서 무독성 및 무잔류성이고, 미생물의 저항성을 유도하지 않는 장점들을 가지고 있어 식품의 첨가물 또는 가축의 사료첨가제로 이용될 경우 안전성이 높다(Wang et al., 1998; Choi et al., 2010).

따라서 본 연구는 성장촉진용 항생제의 대체 가능성이 있는 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물을 육계 사료 내 단독으로 첨가 급여하였을 때, 생산성, 조직 중량, 혈액 특성 및 장내 미생물 균총수를 조사하여 항생제 대체제로 이용 시 육계의 생산성 및 면역체계에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 시험에서 사용된 유산균은 육계 맹장에서 분리한 *Lactobacillus reuteri avibro2*로 사료 내 10^7 cfu/g 수준으로 첨가하였다. 약용식물은 겨우살이, 녹차, 인진쑥 및 오미자를 일정 비율로 혼합하여 열수 추출한 것이며, 식물 추출물은 국내 시판 중인 essential oil을 사용하였다.

2. 공시동물 및 시험설계

5주령 육계(Ross) 100수를 공시하였으며, 평균 체중(2,512±4.3 g)에 해당하는 개체를 처리당 20수씩 선발하고, 10수씩 나누어 환경 조절 계사로 이동시켜 배치하였다. 시험처리는 항생제 무첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)를 대조구로 하였으며, 유산균 0.1% 첨가구(LB), 약용식물 추출물 100 ppm 첨가구(MPE) 및 허브 추출물 100 ppm 첨가구(HE)를 처리구로 두었다(Table 1). 배치 후 1주 동안 시험사료를 급여하고, 이후 *Salmonella gallinarum*을 음수 내 1.0×10^6 cfu/L로 첨가하여 경구투여한 후 2주간 사육하였다.

3. 시험사료 및 사양관리

기초사료는 옥수수, 대두박을 기초로 NRC(1994)에 근거하여 대사에너지 3,100 kcal/kg, 조단백질 함량 20%가 되도록 배합하였다(Table 2). 철제 대사 케이지(0.25×0.40×0.45 m)에서 케이지당 1수씩 사육하였으며, 사료급이기 및 급수기의 숫자는 케이지별로 동일하게 배치하였다. 사양시험 전 기

Table 1. Experimental design

Antibiotics		Treatment
×	NC	Basal diet
○	PC	Virginiamycin 10 ppm + salinomycin 50 ppm
×	LB	*Lactobacillus* 0.1%
×	MPE	Medicinal plants extract 100 ppm
×	HE	Herb extract 100 ppm

NC: basal diet, PC: basal diet with virginiamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm, LB: *Lactobacillus* 0.1%, MPE: medicinal plants extract 100 ppm, HE: herb extract 100 ppm.

Table 2. Formula and chemical composition of the basal diet

Ingredients		%
Corn		61.64
Soybean meal		27.88
Corn gluten meal		4.00
Soybean oil		3.06
Limestone		1.23
Tricalcium phosphate		1.31
Salt		0.25
DL-Methionine		0.08
Lysine-HCl		0.05
Vitamin-mineral mixture[1]		0.50
Total		100.0
Calculated value	ME (kcal/kg)	3,100
	Crude protein (%)	20.0
	Methionine (%)	0.38
	Lysine (%)	1.00
	Ca (%)	0.90
	Available *P* (%)	0.35

[1] Vitamin-mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D_3, 1,500 IU; vitamin E, 20.0 mg; vitamin K_3, 0.70 mg; vitamin B_{12}, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5.0 mg; folic acid, 0.70 mg; pyridoxin, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; choline chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg; Fe, 72 mg; Co, 2.5 mg.

간 동안 사료와 물은 자유채식 및 음수시켰으며, 야간간헐점등을 실시하였다.

4. 조사항목

1) 생산성

시험 종료 시 체중 및 사료잔량을 측정하여 개체별 증체량 및 사료섭취량을 구하였다. 조사된 사료섭취량과 증체량을 통해 사료요구율을 산출하였다.

2) 조직중량

생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별로 10수씩 도살한 후 간, 비장, 췌장 및 F낭을 채취하여 중량을 측정하였으며, 채취한 조직들은 생체 중 100 g당 상대적 중량으로 환산 표기하였다.

3) 맹장 내 미생물 균총

장내 미생물 균총의 변화를 조사하기 위해서 시험 종료시 생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리당 5수씩 희생시켜 회장 및 맹장 내용물을 채취하였다. 회장 내용물은 Meckel's diverticulum 부위에서 아래쪽으로 5 cm 정도 절단하여 채취하였으며, 맹장 내용물은 양쪽 맹장의 내용물을 혼합하여 사용하였다. 채취된 회장 및 맹장 내용물을 생리식염수로 10~9까지 계단희석하였다. 단계적으로 희석된 내용물을 SS agar(*Salmonella* spp.), MacConkey agar(Coliform bacteria) 및 Rogosa agar(Lactic acid bacteria) 평판배지에 각각 접종하였다. Lactic acid bacteria는 혐기적으로 나머지는 호기적 조건에서 24시간 배양한 후 균수를 측정하여 맹장 내용물 1 g당 cfu (colony forming unit)로 계산한 후 $\log_{10}$으로 환산 표기하였다.

4) WBC 조성 및 H/L Ratio

기간별로 처리당 10수씩 선별한 후 익하정맥에서 혈액을 채취하여 백혈구 조성 및 H/L ratio를 분석하는데 이용하였다. 백혈구 조성 및 heterophil과 lymphocyte 비율은 자동 혈구분석기(HEMAVET® HV950FS, Drew Scietific, Inc.)를 이용하여 조사하였다.

5) 통계처리

시험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System(SAS release ver 9.1, 2002)의 General Linear Model procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리구간 유의성은 Duncan's multiple range-test(Duncan, 1955)를 이용하여 5% 수준에서 검정하였다.

결 과

1. 생산성

5주령 육계를 공시하여 7일간 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물을 급여한 후 *Salmonella gallinarum*을 경구투여하여 육계 생산성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. *Salmonella gallinarum* 공격접종 시 폐사는 일어나지 않았으나, 종료 체중 및 증체량이 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 반면에, 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물 첨가 급여 시 육계의 생산성은 무항생제 처리구에 비해 향상되었으며, *Salmonella gallinarum* 공격 접종에 따른 생

Table 3. Effect of dietary *Lactobacillus*, medicinal plants extract, herb extract on growth performance in broiler chickens against *Salmonella gallinarum*

Treatments[1]		Challenge	Initial BW (g/bird)	Final BW (g/bird)	BW Gain (g/bird)	Feed intake (g/bird)	FCR
NC		×	2,511	3,415^{b}	904^{b}	4,750	1.89
		○	2,519	3,360^{c}	841^{c}	4,725	1.88
PC		×	2,518	3,481^{a}	963^{a}	4,735	1.88
		○	2,514	3,415^{b}	901^{b}	4,765	1.90
LB		×	2,509	3,473^{a}	954^{a}	4,755	1.89
		○	2,506	3,413^{b}	897^{b}	4,720	1.88
MPE		×	2,508	3,463^{a}	955^{a}	4,770	1.90
		○	2,509	3,410^{b}	901^{b}	4,775	1.90
HE		×	2,511	3,445^{ab}	934^{ab}	4,750	1.89
		○	2,514	3,375^{c}	861^{bc}	4,730	1.88
SEM			1.35	12.73	12.85	6.11	0.01
Challenge	Without *Salmonella*		2,513	3,455^{a}	942^{a}	4,752	1.89
	With *Salmonella*		2,514	3,395^{b}	880^{b}	4,743	1.90
Feed	NC		2,515	3,388^{b}	873^{b}	4,738	1.88
	PC		2,516	3,448^{a}	932^{a}	4,750	1.89
	LB		2,518	3,443^{a}	926^{a}	4,738	1.88
	MPE		2,509	3,437^{a}	928^{a}	4,773	1.90
	HE		2,513	3,410^{ab}	898^{ab}	4,740	1.89
P-value	Challenge		NS	P<0.01	P<0.01	NS	NS
	Feed		NS	P<0.05	P<0.05	NS	NS
	Challenge × feed		NS	P<0.05	P<0.05	NS	NS

NC: basal diet, PC: basal diet with virginiamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm, LB: *Lactobacillus* 0.1%, MPE: medicinal plants extract 100 ppm, HE: herb extract 100 ppm.
[a~c] Means with the different superscripts differ significantly (P<0.01, P<0.05).

산성 저하가 감소되었다(P<0.05).

2. 맹장 내 미생물 균총

Salmonella gallinarum 공격접종 및 유산균, 약용식물 추출물과 허브 추출물이 맹장 미생물 균총에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. *Salmonella gallinarum*을 공격 접종한 경우, coliform bacteria와 *Salmonella* 수가 증가하였으나(P<0.05), 유산균 수에는 영향을 미치지 않았다. 유산균 첨가 급여 시 유산균 수는 무항생제 및 항생제 처리구에 비해 유의적으로 증가하였다(P<0.05). Coliform bacteria와 *Salmonella* 수는 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물 첨가급여에 따른 변화를 보이지 않았다.

3. 조직 중량

Table 5는 *Salmonella gallinarum* 공격접종 및 유산균, 약용식물 추출물과 허브 추출물이 조직 중량의 변화에 미치는 영향을 나타낸 것이다. *Salmonella gallinarum* 공격접종 시간, 비장 및 F낭의 상대적 중량이 유의하게 증가하였다(P<0.05). 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물 첨가급여에 있어서는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.

4. 혈구 조성

Table 4. Effect of dietary *Lactobacillus*, medicinal plants extract, herb extract on the cecal microflora in broiler chickens against *Salmonella gallinarum*

Treatments		Challenge	Cecum		
			Coliform bacteria	*Salmonella* spp.	Lactic acid bacteria
			-------- log_{10}cfu/gcontent--------		
NC		×	7.06[b]	7.27[b]	8.69
		○	7.56[a]	8.73[a]	8.45
PC		×	7.08[b]	7.23[b]	8.54
		○	7.50[a]	8.66[a]	8.38
LB		×	6.96[b]	7.25[b]	8.68
		○	7.56[a]	8.67[a]	8.93
MPE		×	6.89[b]	7.24[b]	8.53
		○	7.52[a]	8.71[a]	8.86
HE		×	7.07[b]	7.23[b]	8.58
		○	7.59[a]	8.68[a]	8.52
SEM			0.09	0.24	0.06
Challenge	Without *Salmonella*		7.01[b]	7.24[b]	8.58
	With *Salmonella*		7.55[a]	8.69[a]	8.63
Feed	NC		7.31	8.00	8.52[bc]
	PC		7.29	7.95	8.46[c]
	LB		7.26	7.96	8.80[a]
	MPE		7.21	7.97	8.69[ab]
	HE		7.33	7.95	8.55[bc]
P-value	Challenge		*P*<0.01	*P*<0.01	NS
	Feed		NS	NS	*P*<0.05
	Challenge × feed		NS	NS	NS

NC: basal diet, PC: basal diet with virginiamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm, LB: *Lactobacillus* 0.1%, MPE: medicinal plants extract 100 ppm, HE: herb extract 100 ppm.

[a~c] Means with the different superscripts differ significantly (*P*< 0.01, *P*<0.05).

Table 6은 *Salmonella gallinarum* 공격접종 및 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물에 대한 혈구 조성의 변화를 보여주고 있다. *Salmonella gallinarum* 공격접종 후 4일차에 WBC가 급격히 감소하였으며, 시간이 경과함에 따라 정상 수준으로 돌아왔다. 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물의 첨가에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

고 찰

항생제 대체제가 육계 생산성에 미치는 영향에 대한 연구는 오래 전부터 수행되어 왔다. 생균제는 대표적인 항생제 대체제로 이용되고 있는데, 특히 유산균(*Lactobacillus*)은 장내 환경을 변화시켜 *E. coli*나 *Salmonella* 등의 병원균을 억제시킴으로써 내인성 질병 또는 장내 질환을 감소시키고(Fuller, 1973; Dunham et al., 1993), 영양소의 소화율과 장관 면역 발달에 관여하면서 생산성을 향상시킨다(Kornegay et al., 1995) 고 보고되고 있다. 또한, Jin et al.(1998)은 *Lactobacillus*가 육계의 증체량과 사료요구율을 향상시킨다고 보고하였다. 약용식물 추출물이나 허브 추출물은 유산균과 마찬가지로 육계 생산성을 향상시키고 유해 세균을 억제시켜 장관을 안정화시키는 효과를 가지고 있다(Hernandez et al., 2004).

Huff et al.(2002)은 육계에 *E. coli*를 경구투여 후 항생제 대체제로서 bacteriophage를 급여하였을 때 체중이 증가하였다고 하였고, Tierney et al.(2004)과 Dalloul et al.(2001)은 *Lactobacillus*가 투여된 닭에서 *Eimeria* 감염이 예방되었다고 하여 *Lactobacillus*가 생산성 향상 효과 외에 면역 증진 효과를 가지고 있다는 것이 확인되었다.

Hernandez et al.(2004)은 식물 추출물의 2종(essential oil extract, Labiatae extract)을 육계에 급여하였을 때, 대조구에 비해 종료 체중 및 일당 증체량이 향상되었다고 하였으며, Hosseinzadeh et al.(2014)은 항생제 대체제로 coriander를 사용 시 증체량이 대조구에 비하여 높아졌다고 보고하였다. 또한, Jamroz and Kamel(2000)은 carvacrol, capsaicin 및 cinnamaldehyde가 함유된 식물 추출물 300 ppm을 첨가하였을 때, 일당증체량과 사료요구율이 개선되는 효과를 보고하였다. 이는 식물 내에 함유되어 있는 오일 성분(essential oil)이 병원성 및 부패성 미생물에 대한 선별적인 항균작용의 결과(Meena and Sethi, 1994; Elgayyar et al., 2001; Griggs and Jacob, 2005)로 사료된다.

이런 결과들과 마찬가지로, 본 시험에서도 유산균이나 약용식물 추출물 및 허브 추출물 급여구에서 육계의 종료 체중과 증체량이 증가하였으며, *E. coli*나 *Salmonella* 수를 감소시키는 결과가 나타났다.

본 시험의 결과에서 조직 중량이나 혈액 성상은 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물 급이에 따른 차이를 보이지 않았다. 이는 다른 연구들(Hernandez et al., 2004; Capcarova et al., 2010)과 유사한 결과를 보이고 있다. Choi and

Table 5. Effect of dietary *Lactobacillus*, medicinal plants extract, herb extract on the relative organs weight in broiler chickens against *Salmonella gallinarum*

Treatments		Challenge	Liver	Spleen	Pancreas	Bursa of fabricus
				---------- g/100 g BW ----------		
NC		×	2.23	0.12	0.15	0.06
		○	2.26	0.17	0.18	0.10
PC		×	2.24	0.14	0.17	0.06
		○	2.28	0.12	0.17	0.09
LB		×	2.25	0.13	0.18	0.06
		○	2.28	0.15	0.17	0.11
MPE		×	2.26	0.13	0.18	0.06
		○	2.25	0.17	0.18	0.10
HE		×	2.19	0.11	0.18	0.07
		○	2.27	0.14	0.16	0.11
SEM			0.03	0.01	0.05	0.01
Challenge	Without *Salmonella*		2.23^{b}	0.13^{b}	0.18	0.06^{b}
	With *Salmonella*		2.27^{a}	0.15^{a}	0.18	0.10^{a}
Feed	NC		2.25	0.15	0.17	0.08
	PC		2.26	0.13	0.17	0.08
	LB		2.27	0.14	0.18	0.09
	MPE		2.26	0.15	0.18	0.08
	HE		2.23	0.13	0.17	0.09
P-value	Challenge		*P*<0.05	*P*<0.05	NS	*P*<0.05
	Feed		NS	NS	NS	NS
	Challenge × feed		NS	NS	NS	NS

NC: basal diet, PC: basal diet with virginiamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm, LB: *Lactobacillus* 0.1%, MPE: medicinal plants extract 100 ppm, HE: herb extract 100 ppm.
[a,b] Means with the different superscripts differ significantly (*P*<0.05).

Table 6. Effect of dietary *Lactobacillus*, medicinal plants extract, herb extract on the lymphocyte profiles in broiler chicken against *Salmonella gallinarum*

Treatments	Challenge	White blood cell (K/μL)				Heterophil/lymphocyte ratio			
		4d	8d	14d	Total	4d	8d	14d	Total
NC	×	23.1^{bc}	28.9	24.9	25.6	0.42^{b}	0.58	0.48	0.49
	○	14.2^{c}	31.5	32.6	26.1	0.29^{c}	0.60	0.67	0.52
PC	×	28.2^{ab}	32.3	31.5	30.7	0.60^{ab}	0.63	0.62	0.62
	○	16.4^{c}	29.6	30.4	25.5	0.16^{d}	0.53	0.73	0.47

Table 6. Continued

Treatments		Challenge	White blood cell (K/μL)				Heterophil/lymphocyte ratio			
			4d	8d	14d	Total	4d	8d	14d	Total
LB		×	31.1[a]	31.5	31.3	31.3	0.65[a]	0.70	0.66	0.67
		○	20.1[c]	32.4	32.8	28.4	0.14[d]	0.56	0.76	0.49
MPE		×	28.5[ab]	30.8	32.3	30.5	0.77[ab]	0.69	0.65	0.70
		○	13.4[c]	33.6	32.9	26.6	0.21[d]	0.64	0.73	0.53
HE		×	25.9[b]	31.3	32.2	29.8	0.64[ab]	0.74	0.58	0.65
		○	13.6[c]	33.1	32.8	26.5	0.31[c]	0.64	0.72	0.56
	SEM		2.15	0.46	0.76	0.73	0.07	0.02	0.03	0.03
Challenge	Without *Salmonella*		27.3[a]	32.0	30.5	30.0	0.62[a]	0.67	0.60[b]	0.63[a]
	With *Salmonella*		15.2[b]	31.0	32.3	26.2	0.23[b]	0.60	0.72[a]	0.52[b]
Feed	NC		18.6	30.2	29.2	26.0	0.35	0.59	0.59	0.51
	PC		22.3	31.0	30.9	28.0	0.38	0.58	0.68	0.55
	LB		27.0	31.9	32.2	30.4	0.46	0.63	0.72	0.60
	MPE		21.0	32.2	32.6	28.6	0.49	0.67	0.69	0.62
	HE		20.5	32.2	32.6	28.4	0.49	0.69	0.66	0.61
P-value	Challenge		*P*<0.01	NS	NS	*P*<0.01	*P*<0.01	NS	*P*<0.01	*P*<0.01
	Feed		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Challenge × feed		NS	NS	NS	NS	*P*<0.01	NS	NS	NS

NC: basal diet, PC: basal diet with virginiamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm, LB: *Lactobacillus* 0.1%, MPE: medicinal plants extract 100 ppm, HE: herb extract 100 ppm.
[a~d] Means with the different superscripts differ significantly (*P*<0.01).

Chang(2009)은 항생제 대체제로서 약용식물(한약재)이 *Salmonella gallinarum*에 대하여 항균성을 보인다고 하였으며, Woo et al.(2007)은 허브 추출물에 의한 WBC 수치가 항생제와 차이가 없다고 보고하였다. WBC(White blood cell)는 초기 염증 시에 증가하는데(Woo et al., 2007), 이런 이유로 본 시험에서도 *Salmonella*의 공격접종 후 4일째에 WBC 수치가 차이를 보이는 것으로 사료된다.

결과적으로, 유산균이나 식물 추출물은 항생제 대체제로서 이용 가능하다고 보이지만, 이들의 단독적인 사용만으로는 항생제를 완전히 대체하는 것이 불가능하다고 보이며, 서로 다른 두 가지 이상의 대체물질을 복합적으로 이용하였을 때의 상승효과에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

적 요

본 연구는 항생제 대체제(유산균, 약용식물 추출물, 허브 추출물)가 *Salmonella gallinarum*(SG)에 대하여 육계의 생산성, 장내 미생물 균총 및 혈액 특성에 미치는 영향을 조사하고자 수행하였다. 5주령 육계(Ross) 100수를 공시하였으며, 평균 체중(2,512±4.3 g)에 해당하는 개체를 처리당 20수씩 선발하고, 10수씩 나누어 배치하였다. 시험처리는 항생제 무첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)를 대조구로 하였으며, 유산균 0.1% 첨가구(LB), 약용식물 추출물 100 ppm 첨가구(MPE) 및 허브 추출물 100 ppm 첨가구(HE)를 처리구로 두었다. 배치 후 1주 동안 시험사료를 급여하고, 이후 SG를 음수 내 1.0×10^6 cfu/L로 첨가하여 경구투여하고 2주간 사육하였다. 시험사료는 옥수수, 대두박을 기초로 대사에너지 3,100 kcal/kg, 조단백질 함량 20%가 되도록 배합하였다. SG 공격접종 시 종료 체중 및 증체량이 유의적으로 감소하였다(*P*<0.05). 반면에, 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물 첨가 급여 시

육계의 생산성은 무항생제 처리구에 비해 향상되었으며, SG 공격접종에 따른 생산성 저하가 감소되었다(P<0.05). SG를 공격접종한 경우, coliform bacteria와 *Salmonella* 수가 증가하였으나(P<0.05), 유산균 수에는 영향을 미치지 않았다. 유산균 첨가 급여 시 장내 유산균 수는 무항생제 및 항생제 처리구에 비해 유의적으로 증가하였다(P<0.05). SG 공격접종 시간, 비장 및 F낭의 상대적 중량이 유의하게 증가하였고(P<0.05), 공격접종 후 4일차에 WBC가 급격히 감소하였으며, 시간이 경과함에 따라 정상 수준으로 돌아왔다. Coliform bacteria와 *Salmonella* 수, 조직 중량, WBC의 수에 대한 유산균, 약용식물 추출물 및 허브 추출물의 첨가에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 결과적으로, 유산균이나 식물 추출물은 항생제 대체제로서 이용이 가능하며, 이들의 복합사용에 대하여 추가적인 연구가 필요하다.

(색인어: 육계, 항생제 대체제, 생산성, 장내 미생물 균총, 조직 중량)

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: LS0303)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Aarestrup FM, Jenser LB 2007 Use of antimicrobials in food animal production. Pages 405-417 in: Foodborne Diseases. S Simjee, ed. Humana Press, Totowa, NJ.

Askelson TE, Campasiino A, Lee JT, Duong TT 2014 Evaluation of phytate-degrading *Lactobacillus* culture administration to broiler chickens. Appl Environ Microbiol 80: 943-950.

Brisbin JT, Gong J, Orouji S, Esufali J, Mallick AI, Parvizi P, Shewen PE, Sharif S 2011 Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. Clin Vaccine Immunol 18:1447-1455.

Brisbin JT, Gong J, Lusty CA, Sabour P, Sanei B, Han Y, Shewen PE, Sharif S 2008 Influence of in-feed virginiamycin on the systemic and mucosal antibody response of chickens. Poult Sci 87:1995-1999.

Capcarova M, Weis J, Hrncar C, Kolesarova, Pal G 2010 Effect of *Lactobacillus fermentum* and *Enterococcus faecium* strains on internal milieu, antioxidant status and body weight of broiler chickens. Anim Physiol Anim Nutr 94: 215-224.

Chen CY, Tsen HY, Lin CL, Yu B, Chen CS 2012 Oral administration of a scombination of select lactic acid bacteria strains to reduce the *Salmonella* invasion and inflammation of broiler chicks. Poult Sci 91:2139-2147.

Choi HS, Kim KH, Park SH, Nam IS, Hwang SG, Nam KT 2010 Effects of dietary supplementation of oriental herb extracts on growth performance and proliferation of splenocytes under high density stocking condition in broiler chickens. Korean J Organ Agric 18:387-399.

Choi I, Chang HS 2009 Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Salmonella gallinarum* and *Staphylococcus epidermidis*. Korean J Poult Sci 36:231-218.

Dalloul RA, Lillehoj HS, Doerr JA 2001 Probiotics in broilers: Modulation of intestinal immune function. Maryland Nutr Conf Feed Manage Proc 48:30-41.

Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F test. Biometric 11:1-42.

Dunham HJ, Williams C, Edens FW, Cacas IA, Dobrogosz WJ 1993 *Lactobacillus reureri* immunomodulation of stressor-associated disease in newly hatched chickens and turkeys. Poult Sci 72(Supple 1):103(abstract).

Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR 2001 Antimocrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. J Food Protech 64:1019-1024.

Francis DH 2002 Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. J Swine Health Prod 10:171-175.

Fuller R 1973 Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. J Appl Baceriol 36:131-139.

Ghareeb K, Awad WA, Mohnl M, Porta R, Biarnes M, Bohm J, Schatzmayr G 2012 Evaluating the efficacy of an avian-specific probiotic to reduce the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. Poult Sci 91:1825-1832.

Gaskins HR, Collier CT, Anderson DB 2002 Antibiotics as growth promotants: Mode of action. Anim Biotechnol 13: 29-42.

Greathead H 2003 Plants and plant extracts for improving

animal productivity. Proceeding of the Nutrition Society 62:279-290.

Griggs JP, Jacob JP 2005 Alternatives to antibiotics for organic poultry production. J Appl Poult Res 14:750-756.

Gusils C, Gonzalez SN, Oliver G 1999 Some probiotic properties of chicken lactobacilli. Can J Microbiol 5:981-987.

Haghighi HR, Gong J, Gyles CL, Hayes MA, Sanei B, Parvizi P, Gisavi H, Chambers JR, Sharif S 2005 Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. Clin Diagn Lab Immunol 12:1387-1392.

Hayes JR, English LL, Carr LE, Wagner DD, Joseph SW 2004 Multiple-antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. Isolated from commercial poultry production environments. Appl Environ Microbiol 70:6005-6011.

Hermandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD 2004 Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and organ size. Poult Sci 83:169-174.

Hosseeinzadeh H, Alaw Qotbi AA, Seidavi A, Norris D, Brown D 2014 Effects of different levels of coriander (*Coriandrum sativum*) seed powder and extract on serum biochemical parameters, microbiota, and immunity in broiler chicks. The Scientific World Journal 2014:628979-628990.

Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Xie H, Moore PA, Donoghue AM 2002 Prevention of *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). Poult Sci 81:437-441.

Huo YJ, Wang T, Xu RJ 2003 Nutrition and metabolism of neonatal pigs. Pages 185-221 in: RJ Xu and PD Cranwell eds. The Neonatal Pig-gastrointestinal Physiology and Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Huyghebaert G, Ducatelle R, Immerseel FV 2011 An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Vet J 187:182-188.

Jamroz D, Kamel C 2002 Plant extracts enhance broiler performance. J Anim Sci 80(Supple 1):4.

Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali MA, Jalaudin S 1998 Growth performance intestinal microbial populations and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poult Sci 77:1259-1265.

Kim JS, Ingale SL, Kim YW, Kim KH, Sen S, Ryu MH, Lohakare JD, Kwon IK, Chae BJ 2012 Effect of supplementation of multi-microbe probiotic product on growth performance, apparent digestibility, cecal microbiota and small intestinal morphology of broilers. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl.) 96:618-626.

Kim SH, Kim DW, Park SY, Kim JH, Kang GH, Kang HK, Yu DJ, Na JC, Lee SJ 2008 Effect of dietary *Lactobacillus* on growth performance, intestinal microflora, development of ileal villi, and intestinal mucosa in broiler chickens. J Anim Sci & Technol (Kor.) 50:667-676.

Kim DW, Kim SH, Yu DJ, Kang GH, Kim JH, Kang HK, Jang BG, Na JC, Suh OS, Jang IS, Lee KH 2007 Effects of single or mixed supplements of plant extract, fermented medicinal plants and *Lactobacillus* on growth performance in broilers. Korean J Poult Sci 34:187-196.

Klaenhammer TR, Altermann E, Pfeiler E, Buck BL, Goh YJ, O'Flasherty S, Barrangou R, Duong T 2008 Functional genomics of probiotic lactobacilli. J Clin Gastroenterol 42 (Supple 3 Pt 2):S160-S162.

Kornegay ET, Rhein-Welker D, Lindemann MD, Wood CM 1995 Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by yeast culture additions to starter diets containing dried whey or one of two fiber sources. J Anim Sci 73:1381-1389.

Kozarova I, Macanga J, Goldova M, Major P, Tkacikova S 2011 Detection of maduramycin residues in the tissues of chickens and pheasants by the screening test for antibiotic residues (Conchi Mora). Food Addit Comtam (Part A) 28: 608-618.

La Ragione RM, Narbad A, Gasson MJ, Woodward MJ 2004 *In vivo* characterization of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. Lett Appl Microbiol 38:197-205.

Loh TC, Thanh NT, Foo HL, Hair-Bejo M, Azhar BK 2010 Feeding of different levels of metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, fecal microflora, volatile fatty acids and villi height in broilers. Anim Sci J 81:205-214.

Meena MR, Sethi V 1994 Antimicrobial activity of essential oils from spices. J Food Sci & Technol 31:68-70.

Mortier L, Daeseleire E, Huyghebaert G, Grijspeerdt K, Peteghem CV 2005 Detection of residues of the coccidiostat

diclazuril in poultry tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry after withdrawal of mediclated feed. J Argic Food Chem 53:905-911.

Murtaugh MP, Xiao Z, Zuckermann F 2002 Immunological responses of swine to porcine reproductive and repiratory syndrome virus infection. Viral Immunol 15:533-547.

Nagy B, Moon H, Isaacson R, To C, Brinton C 1978 Immunization of suckling pigs against enteric enterotoxigenic *Escherichia coli* infection by vaccinating dams with purified oili. Infect Immun 21:269-274.

Neal-MKinney JM, Lu X, Duong T, Larson CL, Call DR, Shan DH, Konkel ME 2012 Production of organic acids by probiotic lactobacilli can be used to reduce pathogen load in poultry. PLoS ONE 7:e43928.

NRC 1994 Nutrient Requirement of Poultry. National Research Council. National Academy of Science, Washington DC.

O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC 2008 Organic poultry pathogen control from farm to fork. Foodborne Pathog Dis 5:709-720.

Pallares FJ, Halbur PG, Schmitt CS, Roth JA, Opriessnig T, Thomas PJ, Kinyon JM, Murphy D, Frank DE, Hoffman LJ 2003 Comparison of experimental models for *Streptococcus suis* infection of conventional pigs. Can J Vet Res 67:225-228.

Park SY, Kim SH, Yu DJ, Lee SJ, Ryu KS 2001 Effects of supplemental *Lactobacillus* on broiler performance. Korean J Poult Sci 28:27-40.

Patterson JA, Burjholder KM 2003 Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poult Sci 82:627-631.

Pie S, Lalles JP, Blazy F, Laffitte J, Seve B, Oswald IP 2004 Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. J Nutr 134:641-647.

SAS 2002 SAS/STAT Software for PC. Release 9.1, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.

Sato K, Takahashi K, Tohno M, Miura T, Kamada T, Ikegami S, Kitazawa H 2009 Immunomodulation in gut-associated lymphoid tissue of neonatal chicks by immunobiotic diets. Poult Sci 88:2532-2538.

Shim YH, Ingale SL, Kim JS, Kim KH, Seo DK, Lee SC, Chae BJ, Kwon IK 2012 A multi-microbe probiotic formulation processed at low and high drying temperatures: Effects on growth performance, nutrient retention and caecal microbiology of broilers. Br Poult Sci 53:482-490.

Shuford JA, Patel R 2005 Antimicrobial growth promoter use in livestock- implications for human health. Rev Med Microbiol 16:17-24.

Tierney J, Gowing H, Van Sindersen D, Flynn S, Stanley N, McHardy N, Hallahan S, Mulcahy G 2004 *In vitro* inhibition of *Eimeria tenella* invasion by indigenous chicken *Lactobacillus* species. Vet Parasitol 122:171-182.

Wang RJ, Li DF, Boume S 1998 Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in the year 2000. Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 14th Annual symposium 273-291.

Willams Smith H 1970 The transfer of antibiotic resistance between strains of enetrobacteria in chicken, calves and pigs. J Med Microbiol 3:165-180.

Woo KC, Kim CH, NamGung Y, Paik IK 2007 Effects of supplementary herbs and plant extracts on the performance of broiler chicks. Korean J Poult Sci 34:43-52.

Woo PCY, Tsoi H, Wong L, Leung HCH, Yuen K 1999 Antibiotics modulate vaccine-induced humoral immune response. Clin Diagn Lab Immunol 6:823-837.

Received Jun. 3, 2017, Revised Jun. 20, 2017, Accepted Jun. 21, 2017