



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

박테리오파지의 침가가 한우비육에
미치는 영향

濟州大學校 大學院

動物資源科學

金 炅 昊

2015年 12月

박테리오파지의 침가가 한우비육에 미치는 영향

指導教授 康 珉 秀

金 炘 昊

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함.

2015年 12月

金炘昊의 農學 碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長 황 규 계 

委 員 손 원 근 

委 員 강 민 수 

濟州大學校 大學院

2015年 12月

Effects of Korean Cow in Accordance with
the Level of Bacteriophage added

Kim, Kyoung-Ho

(Supervised by Professor Kang, Min-Soo)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF NATURAL SCIENCES

2015. 12.

THIS THESIS HAS BEEN EXAMINED AND APPROVED

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

I. 서 론	1
II. 연구사	2
III. 재료 및 방법	5
1) 공시동물 및 실험설계	5
2) 사양관리	6
3) 조사 및 통계분석	7
IV. 결과 및 고찰	10
1) 사양성적	10
2) 도체성적	13
3) 혈액의 화학적 성상	15
4) 혈중 면역항체 함량	17
5) 분변 미생물 변화	19
V. 요 약	21
ABSTRACT	23
참고문헌	26

List of Tables

Table 1. Composition of Bacteriophage	5
Table 2. Ingredient and chemical composition of experimental diet(%)	6
Table 3. Index for the cow meat grading of quantity and quality	8
Table 4. Average daily gain and feed conversion of Korean cow steers	12
Table 5. Effect of bacteriophage feed on carcass traits of Korean cow steers	14
Table 6. Effect of bacteriophage feed on blood parameters in Korean cow steers	16
Table 7. Effect of bacteriophage feed on blood level of Immuno-globulin in Korean cow steers	18
Table 8. Effect of bacteriophage feed on the CFU(colony forming units) of <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Lactobacilli</i> and total bacteria in the feces of Korean cow	20

I. 서 론

항생제 남용은 국가적 문제로 향후 슈퍼박테리아의 출현 등을 야기하며 그에 따른 부작용은 천문학적 비용을 지불해야 한다. 그리고 축산업에서도 항생제의 남용은 그 고기를 소비하는 우리에게 항생제 축적과 그에 따른 여러 문제를 발생시키고 있다. 그래서 외국에서는 항생제 대체제를 통한 동일한 효과를 얻기 위한 노력들이 진행되고 있으며, 이러한 연구는 천연 식물성 성분 응용 기술, 프로바이오틱, 식물 에센셜 오일을 이용한 연구가 진행되고 있다. 이러한 노력들은 2001년부터 농림축산식품부의 항생제 첨가 규제에 따른 것으로 판단되고 있다. 박테리오파지 연구도 이러한 흐름의 한 경향으로 최근 국내에서는 2010년 *Salmonella(S.) Gallinarum* 박테리오파지 (농림수산식품부 고시 제2009-195호), 2011년 *S. Typhimurium* 박테리오파지가 사료첨가제로서 등록 및 고시 되었으며 (농림수산식품부 고시 제2011-125호), 서남아시아 및 동남아시아 일부 국가에서도 박테리오파지의 사료첨가제 등록 및 상용화가 되고 있다. 박테리오파지는 자연계에 어디든지 존재하고 있으며, 미생물수보다 많은 수가 존재한다. 박테리오파지 종류 중 산업적으로 많이 사용되는 종류는 용균성으로, 이 파지의 DNA가 숙주 균내의 염색체에 삽입 없이 복제, 전사, 번역을 하기 때문에 빠른 효과를 보이고 있다. 한우는 우리나라 전통적인 품종으로 전국민의 사랑을 받고 있는 단백질원이다. 그리고 최근에는 축산에서도 항생제를 사용하지 않는 축산이 대두되고 있다. 본 연구에서는 이러한 친환경적 체제를 활용하여 한우의 생산성을 증대시키기 위하여 박테리오파지의 첨가 수준에 따른 한우 비육우의 생산성의 효과를 알아보고 이를 통하여 친환경 축산의 올바른 사양 기술을 제공하고자 수행하게 되었다.

II. 연구사

1. 박테리오파지

미생물을 숙주로 사용하는 박테리오파지는 실제로 미생물 수보다 많은 수로 자연계 어디에도 존재하는 생물체이다. 용균성(lytic) 파지와 용원성(lysogenic) 파지는 그 특성에 따라 구분하는데 크게 볼 때 용균성이 현재 축산에서 사용되는 것으로 알려져 있다. 그 이유는 박테리오파지의 DNA가 숙주 균주의 염색체에 다른 바이러스처럼 삽입되는 과정이 필요없이 바로 replication, transcription, translation 이루어지기 때문에 숙주 미생물의 사멸화에 빠르게 반응할 수 있고, 안전성에 있어서도 우수한 것으로 알려져 있다[Bertani, 1953; Guttman 등, 2005; Kropinski, 2006]. 축산업에 적용되기 시작한 사례는 d'Herelle가 발표한 사례에서 가금티푸스(fowl typhoid)의 원인체인 *S. Gallinarum*에 적용하였고, 1940년대까지 유럽을 중심으로 인체용으로 개발되어 병원에서 적용되었다.(Chibani 등, 2004; Merril 등, 2003; Smith 와 Huggins, 1982). 그러나 이러한 사용 경향이 폐지된 개발로 인하여 급격하게 감소하면서 최근까지 연구용으로만 사용되었다고 한다. 그리고 최근에는 미국 FDA에서 식품 허용 허가 나왔으며, 대장균과 같은 미생물에 사용을 검토하고 있다고 한다. 용원성 세균의 특성을 살펴보면 유전자를 세균의 유전체에 삽입시킨 뒤 prophage 형태로 존재하면서 세균에게 독소 생성, 대사산물 형성 등의 표현형을 나타낸다. 그리고 UV, 항생제, 열처리 등에 노출되면서 세균으로부터 박테리오파지 유전자가 나와서 용균성 생활환을 거치면서 세균을 사멸시키며 나오게 된다. 특히, 박테리오파지는 항생제와 달리 매우 높은 숙주 특이성을 나타내기 때문에 목적하는 병원성 세균만을 사멸시킬 수 있어서 부작용이 매우 적다. 산업적으로 적용하기 위하여 필수적인 비용 문제에 있어서도 저비용으로 처리할 수 있는 장점이 있다. 대략 박테리오파지의 종류가 세균에 비하여 10^{31} 수준으로 세균에 비해 훨씬 많이 존재한다(Kutateladze 와 Adamia, 2010).

2. 박테리오파지의 응용분야

병원성 미생물에 사용하면서 특히, 항생제 내성 세균의 치료에 각광을 받고 있다. 그리고 또한 대량 유전자의 전달을 위한 박테리오파지 용균성 실험에도 활용되고 있으며, 수용체 연구에서도 활용되고 있다. 박테리오파지를 이용하여 치료 할 수 있는 경우는 화상 환자의 상처 부위에 손쉽게 감염되는 항생제 내성 균에 의하여 계속해서 염증과 화상의 정도가 심해 질 경우 사용하는데 *Pseudomonas aeruginosa* 균이 항생제에 전혀 반응하지 않고 계속해서 상처 부위를 넓혀 간 상태에서 간단하게 박테리오파지를 도말한 후 상처를 검토해 보았을 때 세균을 용균 시키면서 환자의 면역계가 상처를 치유하는 결과를 얻을 수 있었다. 두 번째 방법은 경구 투여 방식으로 장내 유해 미생물의 수를 감소시키는 연구가 진행되었다. 이 실험은 생쥐 실험을 통해 *Escherichia. coli* O157:H7, *S. enterica* Typhimurium, *Staphylococcus. aureus*, *Enterococci*, *Campylobacter jejuni* 등의 치료 효과를 확인 하고 있다(Brüssow, 2005; Wills 등, 2005; Biswas 등, 2002; Hagens 등, 2004).

3. 축산에서의 박테리오파지의 응용

축산식품에서 박테리오파지를 응용하여 병원성 미생물의 제거 실험이 진행되고 있으며, 방법적으로 특정 미생물에 대한 박테리오파지를 분리 한 후 이 박테리오파지가 어떤 형태로 숙주 미생물을 저해하는지에 대한 실험을 통해 확인하고, 이를 여러 환경에서 적응 실험을 통해 가축에 응용하여 미생물에 대한 예방이나 치료를 위하여 경구 투여, 복강주사, 사료 및 물에 첨가하여 사육하거나 또는 공기 중 분무를 통하여 가축의 장내 유해 미생물을 조절하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그리고 안정화된 박테리오파지를 위생처리제로 사용하기 위하여 사용되는 모든 기구를 침지 또는 도포하여 사용하는 일종의 소독약으로 사용하고 있다.

4. 비육우에서의 첨가제 사육

소 사육에 있어 육성기와 달리 출하를 앞 둔 비육시기에는 단백질과 에너지에 의해 성장 속도가 영향을 받고(Martin 등, 1978), 육량 및 육질은 대사량 보다는 유전적 능력에 좌우된다고 한다. 그러나 최근 연구에서는 이 못지않게 환경에 의하여 결정되는 것도 중요한 연구 인자로 밝혀지고 있다. 특히, 사양시기에 조절되는 조건에 의하여 밀접한 관련이 있다고 한다(Crouse 등, 1989). 비육우의 육량 및 육질을 결정하는 요인 중에서도 사료원에 의한 영향이 가장 큰 것으로 알려져 왔으며, 실제로 많은 연구자들에 의해 사료 및 사료 첨가제의 이용을 통해 비육우의 육량 및 육질을 개선시키기 위한 많은 노력이 이루어져 왔다(신, 1995; 조 등, 1992; 백등, 1989; Hedrick 등, 1969; Jacobs 등, 1977). 여러 연구 보고에 의하면 알코올이 포함된 첨가사료제가 성장에 관여하는 것으로 나타났다(Itabashi 등, 1991). 일본 연구 보고에서도 32% 알코올 1,500 ml를 일일 2회 사료에 첨가하여 급여한 결과 일당증체량이 대조구에 비하여 15% 향상되었으며 근내지방도, 광택 및 육색이 개선되어 지육단가를 높게 받았다고 보고한 바 있다(津吉 등, 1990). 조사료를 통한 소 사육은 영양적, 생리적, 경제적 그리고 사회·환경적 측면에서 매우 중요하게 대두되고 있어서 최근 우리나라 소 사육에서 청보리등의 조사료 증산과 이모작을 통한 수도작 이후에 조사료 확보에 고품질 비육사업에 국가적으로 지원을 아끼지 않고 있다. 이는 소가 섭취하고 있는 조사료 및 비단백태 질소화합물은 고단백질 식품인 우유와 고기를 생산하여 인간에게 제공하는 좋은 기능을 하고 있기 때문이다(Ørskov, 1998).

최근 인간의 면역과 항암에 효과가 있는 것으로 알려진 셀레늄은 1817년 스웨덴 화학자 베르첼리우스에 의하여 발견되었다(Berzelius, 1817). 이 영양소가 첨가된 상태에서 간조직의 괴사를 막고, 번식, 정자 형성, 면역작용, 그리고 항산화에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려지면서 전세계적으로 관심이 증대되어 셀레늄 첨가 식품이 고가로 판매되고 있는 실정이다(Harrison 등, 1984; Marin-Guzman 등, 2000; Stabel 등, 1989). 그래서 축산물에 다량으로 침착된 셀레늄 제품을 생산하기 위하여 첨가제 사양 방법이 연구되고 있고 이를 통하여 인간이 먹은 축산물을 통하여 셀레늄의 효과를 얻을 수 있는 Se-food system이 등장하였다(Combs, 2001).

Ⅲ. 재료 및 방법

1) 공시동물 및 실험설계

본 연구의 사양시험을 위해 한우 비육우 18개월령 30두를 공시하였으며 3처리 10두씩 완전임의 배치하였고, 시험기간은 총 6개월간 사양시험을 실시하였다. 본 연구에 사용된 Bacteriophage 구성 및 시험사료는 Table 1, 2와 같다. 처리구는 Bacteriophage 사료 무첨가구(control), 0.1% Bacteriophage 사료 급여구(T1), 0.2% Bacteriophage 사료 급여구(T2)로 하였고 TMR 사료에 Top dressing 하여 급여하였다.

Table 1. Composition of Bacteriophage

Salmonella	thyphimurium
	enteritidis
	cholerasuis
	derby
Staphylococcus	aureus
Escherichia	coli k88
	coli k99
	coli f41
Clostridium	perfringens type A
	perfringens type B

Table 2. Ingredient and chemical composition of experimental diet(%)

Ingredients	Fattening		Finishing	
	composition, % of DM			
Klien grass	8.8		Formula feed	80.0
Annual ryegrass	8.8		Concentrate	10.9
Timothy grass	3.2		Corn powder	4.5
Corn silage	8.8		Lupin	2.6
Basal feed	17.5		Whole Cotton seed	2.0
Brewers grain	8.8			
Corn powder	26.3			
Corn gluten	17.5			
Limestone	0.4			
	Chemical composition, % of DM			
Dry matter	68.79		Dry matter	78.32
Crude protein	10.27		Crude protein	12.30
Ether extracts	1.25		Ether extracts	2.09
Crude fiber	11.16		Crude fiber	13.78
Crude ash	6.91		Crude ash	2.59
Ca	1.25		Ca	0.76
P	0.40		P	0.31
NFE	39.20		NFE	47.56
NDF	33.11		NDF	32.66
ADF	14.73		ADF	16.25
TDN	85.04		TDN	83.22

DM: dry matter, NFE : nitrogen free extract, NDF : neutral detergent fiber,

ADF : acid detergent fiber, TDN : total digestible nutrients

2) 사양관리

본 연구를 위하여 농장 사양 실험을 위해 섭외된 농장에서 실시하였으며, 실험에 사용된 소의 관리 오전 오후에 사료를 급여하여 실시하였다. 물은 자유 채식 시켰으며 시험사료와 물 이외의 첨가제나 약품은 일체 사용하지 않았다.

사양실험을 진행한 농장의 연중 기온과 습도 그리고 그 외 환경적인 부분은 그 해 평균 온도와 습도 등을 측정하여 평균치에서 벗어나지 않는 범위를 확인하였으며 만일, 온도 등을 포함한 환경 변이가 평균값에서 벗어날 경우에는 이를 보정하여 조정하기 위한 준비를 모두 마친 상태에서 사양 실험을 준비하였다. 사용된 사료는 조사료를 위주로 사육하고 사료의 조성은 Table 2와 같이 동일한 조건으로 사육하면서 진행하였다.

3) 조사 및 통계분석

(1) 증체량 및 사료섭취량

공시축의 개시체중을 조사한 후 각 처리구별로 사료를 급여하였고, 시험 개시 후 3개월 및 6개월에 체중을 측정하였다. 증체량은 측정된 체중에서 이전 체중을 뺀 값으로 계산하였고, 일당 증체량은 증체량에서 시험일수를 나눈 값으로 추정하였다.

(2) 도체등급

실험이 종료된 시점은 시작 후 6개월령으로 조정하였으며 실험이 완전 종료된 후 실험에 사용된 모든 공시축은 동시에 출하하였으며 도체등급판정 기준에 의거하여 축산물등급판정사가 도체등급을 판정하였다. 관행적으로 축산물 등급판정에 사용되는 소의 등급판정은 Table 3과 같다. 육질등급은 근내지방도, 육색, 지방색, 조직감, 성숙도를 따라 육질등급을 정하고, 도체중량, 등지방두께, 등심단면적을 종합하여 육량등급을 정하였다.

Table 3. Index for the cow meat grading of quantity and quality

		Meat quality grades					
		1 ⁺⁺	1 ⁺	1	2	3	(D)
Meat quantity grades	A	A 1 ⁺⁺	A 1 ⁺	A 1	A 2	A 3	
	B	B 1 ⁺⁺	B 1 ⁺	B 1	B 2	B 3	
	C	C 1 ⁺⁺	C 1 ⁺	C 1	C 2	C 3	
	D						

(3) 혈액학적 검사

혈액성분 분석을 위해 공시축의 미정맥 에서 혈액을 채취하였다. WBC, RBC, Hct, Hb, Platelet 는 EDTA가 첨가된 Vacutainer에 채취하였고, Albumin, ALP, AST, Glucose, Creatine, BUN, total protein은 혈청을 분리하여 녹십자 의료재단에 분석의뢰 하였다. 본 혈액학적 검사는 실험을 진행하면서 처리한 환경이 소의 혈액학적 구성에 어떠한 영향을 끼치는지를 검사하기 위한 검사로서, 주로 백혈구의 경우는 면역학적 이상과 질병감염 그리고 혈액 내 이상 변화를 통해 실험을 통하여 변화된 결과를 간접적으로 분석하기 위하여 실시하였다.

(4) 혈중 면역항체 조사

비육우 미정맥에서 혈액을 10 ml를 채혈하여 Vacutainer에 옮겨 담은 후 2시간동안 상온에서 정치한 후 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 -70℃ 에 보관하였다. 혈청 Ig의 분석은 효소면역법(Bovine IgA, IgG,

IgM ELISA Quantitation Set, Bethyl, USA)으로 IgA, IgG 및 IgM의 농도를 조사하였다. 면역효소측정 방법은 결합항체와 비결합항체의 분리를 진행하는 방법으로 항체는 IgG를 이용하여 진행 할 수 있다. 표지효소로는 알카리성 포스파타아제, β -글루코니다아제, 글루코오스-6-인산탈수소효소, 과산화효소(POD)를 이용한다. 확인하는 방법은 항체에 결합하는 기질을 처리하여 기질의 색이 변하는 정도를 가지고 판정하는 방법과 2차 항체에 형광물질을 붙인 후 형광정도를 ELISA 법으로 스펙트로포토메타를 이용하여 측정하는 방법으로 혈액 내 변화를 외부 요인의 변화에 따라 몸속이 가장 빠르게 반응하는 점을 이용한 측정 방법이다.

(5) 분변 미생물 조사

분변 미생물 검사를 위해 50 ml conical tube에 2 g씩 샘플을 채취하여 20 ml EB buffer를 넣고 균질하게 현탁액을 제조하였다. PBS buffer(Merck, USA)를 이용하여 10진희석한 후 총균수는 TSA plate(Merck, USA), 대장균은 EMB plate(Merck, USA), 살모넬라는 Rambach agar plate(Merck, USA), 유산균은 MRS plate(Merck, USA)에 100 μ l 도말하여 colony 수를 계수하였다.

(6) 통계분석

본 시험에 얻어진 결과는 SAS package program의 GLM procedure를 이용하여 실시하였으며, Duncan 다중검정에 의해 처리구간의 유의성($p < 0.05$)을 검증하였다.

IV. 결과 및 고찰

1) 사양성적

Bacteriophage 사료 급여에 따른 한우 비육우의 일당증체량 및 사료 요구율에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. Bertani(1953)등은 미생물을 숙주로 사용하는 박테이오파지는 실제로 미생물 수보다 많은 수로 자연계 어디에도 존재하는 생물체이다. 용균성(lytic) 파지와 용원성(lysogenic)파지는 그 특성에 따라 구분하는데 크게 볼 때 용균성이 현재 축산에서 사용되는 것으로 알려져 있다. 그 이유는 박테이오파지의 DNA가 숙주 균주의 염색체에 다른 바이러스처럼 삽입되는 과정이 필요없이 바로 replication, transcription, translation 이루어지기 때문에 숙주 미생물의 사멸화에 빠르게 반응할 수 있고, 안전성에 있어서도 우수한 것으로 알려져 있다고 보고하였다. 초기 실험을 시작하기 전에 초기 증량은 대조구가 624.60 kg이고 처리구 T1은 616.80 kg, T2는 623.80 kg으로 실험을 시작하였다. 그러나 종료 시 대조구와 T1에서 T2보다 높은 증체량을 보여주었다. 그 외 일당 증체량은 대조구와 처리구 사이에 차이가 없거나 오히려 줄어드는 현상이 발견되었다. 이 실험을 통해서 고려해야 할 사항이 한 가지 빠진 상태가 아닐까 생각했다. 유전적 보정량에 대한 정확한 결과치가 이러한 차이를 둘 수 있다고 생각했다. 그렇기 때문에 증체량은 유전적 요인이 섭취량과 비례하여 영향을 끼치는 그 부분에 대한 보정을 위해 임의배치를 통해 결과를 해석해야 하는데, 현재 결과는 그러한 현상을 현재 해석할 수 없음을 알 수 있다. 그러나 재미있는 결과가 T2 처리구에서 나타났는데 사료 요구율이 T2에서 높게 나타남을 볼 수 있다. 이렇기 때문에 증체량의 부의 영향을 끼친 것으로 판단된다. 증체량은 대조구와 T1 처리구에서 유의적으로 높게 나타났고 ($P < 0.05$), 사료 요구율은 T2 처리구에서 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 그리고 사료효율은 T2에서 T1과 대조구에 비하여 높게 나타났다. 실제로 동일한 다른 실험에서는 사용한 박테이오파지의 비율이 0.5%와 1%로 첨가했지만 현 사양 실험에서는 0.1~0.2% 첨가한 상태이기 때문에 아마도 효과가 이전 실험에서보다 낮게 나온 것으로 사료되며, 추가 연구를 통하여 만일, 0.5%이상일 경우에는 효과적일 것으로 생각된다. 추후, 좀 더 파지의 양을 추가한 실험이

필요할 것으로 사료되며, 다른 연구보고와 이전 연구를 토대로 최소 0.5%첨가하는 것이 효과를 검증할 수 있을 것이다. 그러나 실제로 상업적 목적으로 경제성을 고려할 때 대부분의 사료 첨가제는 총 중량의 0.01~0.05% 수준이 되어야만 경제성이 있다고 할 때 현재 수준으로 0.5%로 올릴 경우 경제성의 문제가 발생하기 때문에 증체율에 적용하는 것은 조금 어려울 것 같다. 만일, 적은 분량의 첨가에서도 효과적인 박테리오파지를 개발한다면 가능할 것으로 사료된다. 돼지의 적용 연구와 달리 반추위 동물은 반추위내에 수많은 종류의 박테리아가 존재하기 때문에 무작위 파지의 경우는 큰 의미가 없다고 주장하는 결과도 많다. 그러나 만일, 면역에 관련된 것이나 질병을 유발시키는 박테리아의 경우 맞춤형 파지는 큰 효과를 보일 것으로 생각된다.

Table 4. Average daily gain and feed conversion of Korean cow steers

(Unit: kg, DM,head, day)

Items	Control	T1	T2
Initial weight	624.60±10.27 ¹⁾	616.80±7.92	623.80±4.77
Final weight	752.00±12.44	739.40±14.78	722.80±7.88
Total gain	127.40±5.73 ^a	122.60±8.68 ^a	99.00±7.64 ^b
Average daily gain	0.65±0.03	0.65±0.04	0.56±0.04
Feed intake	9.55	9.56	9.57
Feed conversion ratio	14.90±0.71 ^b	15.18±0.97 ^b	17.89±1.07 ^a

¹⁾Values are mean ± standard error

^{ab} Means in the same row with the same superscript letter are not significantly different(P<0.05) by DMRT(Duncan's new multiple range test).

Control : TMR, T1: TMR + 0.1% Bacteriophage feed, T2: TMR + 0.2% Bacteriophage feed

2) 도체성적

Bacteriophage 사료 급여에 따른 한우 비육우의 도체성적에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다. Martin(1978) 등은 소 사육에 있어 육성기와 달리 출하를 앞 둔 비육시기에는 단백질과 에너지에 의해 성장 속도가 영향을 받는다고 보고하였고, Crouse(1989) 등은 육량 및 육질은 대사량 보다는 유전적 능력에 좌우된다고 한다. 그러나 최근 연구에서는 이 못지않게 환경에 의하여 결정되는 것도 중요한 연구 인자로 밝혀지고 있다. 특히, 사양시기에 조절되는 조건에 의하여 밀접한 관련이 있다고 보고 하였다. 본 실험을 통하여 사육한 30두를 실험 종료 후 동시에 도축하여 비교하였으며 비육우의 월령은 평균 32개월령으로 거세우 상태로 출하시킨 결과, 도체중, 등지방두께 및 등심단면적은 T1 처리구에서 가장 높은 수치를 보였으나 유의적인 차이가 없었다. 결과를 살펴보면 대조구에서 446.30 kg 이고 T1 처리구는 453.70 kg으로 사양실험 최종단계에서의 중량대비 도체효율에서 유의성은 대조구의 최종 육량과 비교 했을 때 T1 처리구에서 나타나고 있다. T2 처리구에서는 큰 차이를 발견할 수 없었다. 등심단면적의 경우에도 수치상으로 T1 처리구에서 약간 높게 나타나고 있었으며, 대조구와 T2 처리구에서는 거의 차이가 나타나지 않고 있었다. 고기의 육색은 혈액조성과 그리고 건강한 고기를 표현하는 지표로 사용되는데, 본 실험에서는 육색은 대조구에서 5.40으로 가장 높은 수치를 보였고, T1 처리구에서 4.80으로 가장 낮은 수치를 보였다($P < 0.05$). 근육내 지방 침착도를 나타내는 마블링 스코어는 앞선 결과와 달리 T2 처리구에서 가장 높은 지수를 나타냈다. 육색과는 반대의 결과를 볼 때 지방의 침착 기작과 밀접한 관련이 있을 것으로 보이며, 위내 미생물의 지방형성에 영향을 끼치는 유전자 발현에 직간접적으로 관여 할 수 도 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 유의적인 차이는 크게 관찰되지는 않지만 박테리오파지가 긍정적이든, 부정적이든 어느 정도 사양실험에서 영향을 끼치고 있음을 나타내고 있다고 볼 수 있다. 津吉(1990) 등은 일본 연구 보고에서도 32% 알코올 1,500 ml를 일일 2회 사료에 첨가하여 급여한 결과 일당증체량이 대조구에 비하여 15% 향상되었으며 근내지방도, 광택 및 육색이 개선되어 지육단가를 높게 받았다고 보고한 바 있다.

Table 5. Effect of bacteriophage feed on carcass traits of Korean cow steers

(Unit: kg,mm,cm²,head)

Items	Control	T1	T2
Carcass weight	446.30±7.72 ¹⁾	453.70±10.04	431.10±5.95
Back fat thickness	10.10±0.94	12.90±1.33	10.60±1.12
<i>Longissimus muscle</i> area	89.20±1.97	89.70±2.43	88.60±2.65
Meat production index	65.98±0.77	64.12±0.92	65.96±0.80
Marbling score	5.00±0.47	5.00±0.42	5.30±0.40
Meat color	5.40±0.22 ^a	4.80±0.13 ^b	4.90±0.18 ^{ab}
Fat color	3.10±0.10	3.10±0.10	3.00±0.00
Muscle texture	1.30±0.15	1.30±0.15	1.20±0.13
Meat quality index	3.20±0.25	3.20±0.25	3.50±0.22
Meat yield index	2.20±0.20	1.90±0.23	2.30±0.15
Meat quality(1 ⁺⁺ :1 ⁺ :1:2)	0:4:4:2	0:4:4:2	1:3:6:0
Meat yield(A:B:C)	3:6:1	3:4:3	3:7:0

¹⁾Values are mean ± standard error

^{ab} Means in the same row with the same superscript letter are not significantly different(P<0.05) by DMRT(Duncan's new multiple range test).

Control : TMR, T1: TMR + 0.1% Bacteriophage feed, T2: TMR + 0.2% Bacteriophage feed

3) 혈액의 화학적 성상

Bacteriophage 사료 급여에 따른 한우 비육우 혈액의 생화학적 성상을 조사한 결과는 Table 6에 나타내었다. 대부분의 분석 항목에서 Bacteriophage 첨가구와 무첨가구 사이에 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 Bacteriophage 사료 급여로 인한 부정적 영향은 없는 것으로 사료된다. 혈구수 감소는 어린 송아지의 경우 질병에 감염되었거나 현재 면역적으로 약화되었을 때 나타나며, 이럴 경우 질병에 저항하기 위하여 백혈구의 경우는 오히려 증가하는 것으로 나타나고 있다(Irmak, 2006). 정상범위는 5~10M/ μ l 수준이다. 본 결과에서 대조구(7.37), T1 처리구(7.33), T2 처리구(7.15)의 수치로서 거의 차이를 보이지 않고 있어서 박테리오파지가 특정하게 부정적인 영향을 끼치는 그런 현상은 보이지 않는 것으로 판단된다. 첨가구와 대조구를 비교한 실험에서 RBC 수치 및 Total protein은 첨가구가 무첨가구 보다 유의하게 높은 결과를 나타냈다($P < 0.05$). 그리고 간세포나 조직 내의 세포가 파괴 되었을 때, 파괴된 세포로부터 유리되는 효소를 통하여 측정하는 ALT, AST는 처리구 T2에서 ALT가 유의적으로 높게 나타나고 있음이 관찰되었다. 여러 가지 요인을 살펴볼 수 있을텐데, 이 결과로만 해석한다면 이 박테리오파지가 어느 정도 세포 손상에 영향을 끼친 것으로 볼 수 있다. 이를 통하여 고찰 해 볼 수 있는 사항은 어떤 형태로든지 박테리오파지의 처리가 사양실험에서 세포나 혈액의 성상에 영향을 끼치지만, 이 영향이 생리학적으로 큰 변화를 유발 하지는 않는 것으로 판단되며, 이런 경우 추가 실험이 필요할 것으로 생각된다. Brüssow(2005) 등은 박테리오파지를 이용하여 치료 할 수 있는 경우는 화상 환자의 상처 부위에 손쉽게 감염되는 항생제 내성균에 의하여 계속해서 염증과 화상의 정도가 심해 질 경우 사용하는데 *Pseudomonas aeruginosa* 균이 항생제에 전혀 반응하지 않고 계속해서 상처 부위를 넓혀 간 상태에서 간단하게 박테리오파지를 도말한 후 상처를 검토해 보았을 때 세균을 용균 시키면서 환자의 면역계가 상처를 치유하는 결과를 얻을 수 있었다. 두 번째 방법은 경구 투여 방식으로 장내 유해 미생물의 수를 감소시키는 연구가 진행되었다. 이 실험은 생쥐 실험을 통해 *Escherichia. coli O157:H7*, *S. enterica Typhimurium*, *Staphylococcus. aureus*, *Enterococci*, *Campylobacter jejuni* 등의 치료 효과를 확인 되었다고 보고하였다.

Table 6. Effect of bacteriophage feed on blood parameters in Korean cow steers

Items	Control	T1	T2
RBC($10^6/\mu\text{l}$)	9.00±0.42 ^b	9.67±0.18 ^{ab}	9.96±0.20 ^a
WBC($10^3/\mu\text{l}$)	7.37±0.52 ¹⁾	7.33±0.30	7.15±0.70
Hct(%)	40.60±1.42	42.96±0.70	43.82±0.89
Hb(g/dl)	15.76±0.75	16.22±0.22	16.68±0.41
Platelet($10^3/\mu\text{l}$)	261.33±23.17	257.00±19.00	257.80±30.46
Albumin(g/dl)	3.52±0.20	3.60±0.11	3.70±0.11
ALP(U/L)	102.60±16.19	82.2±8.98	68.0±9.54
AST(U/L)	67.40±5.78	62.20±3.73	62.20±6.09
ALT(U/L)	18.00±1.38	18.20±0.58	21.40±4.01
Glucose(mg/dl)	89.20±6.93	89.40±7.34	89.00±5.67
Creatinine(mg/dl)	1.17±0.08	1.19±0.07	1.14±0.22
BUN(mg/dl)	14.06±0.95	14.18±0.74	15.94±1.16
Total protein(g/dl)	6.06±0.31 ^b	6.22±0.23 ^{ab}	6.94±0.20 ^a

¹⁾Values are mean ± standard error

^{ab} Means in the same row with the same superscript letter are not significantly different($P<0.05$) by DMRT(Duncan's new multiple range test).

Control : TMR, T1: TMR + 0.1% Bacteriophage feed, T2: TMR + 0.2% Bacteriophage feed

4) 혈중 면역항체 함량

Bacteriophage 사료 급여에 따른 한우 비육우의 혈중 면역항체 함량을 조사한 결과는 Table 7에 나타내었다. IgG 및 IgA는 T1 첨가구가 유의적으로 높은 결과를 나타냈다($P < 0.05$). 혈중 면역항체 실험은 소 생체내에 알레르기, 면역억가, 외부 항원에 대한 반응정도를 측정하는 도구로서 사용되어 왔다. 결과를 살펴보면 특히, T1의 차이가 T2와 대조구에 비하여 두드러지게 나타나고 있다. 그러나 대조구와 T2 처리구에서는 두 개 사이에 큰 차이를 발견 할 수 없다. 실제로 박테리오파지가 좀 더 들어간 처리구 보다는 그보다 적은 양의 대조구에서 IgG 가 더 많이 발현되고 있음을 확인하였다.

Table 7. Effect of bacteriophage feed on blood level of Immuno-globulin in Korean cow steers

(Unit: mg/ml)

Items	Control	T1	T2
IgG	900.93±11.53 ^b	971.53±10.86 ^a	882.78±14.95 ^b
IgM	23.75±0.25 ¹⁾	25.07±2.61	24.29±1.68
IgA	14.54±0.46 ^b	16.65±0.31 ^a	14.99±0.73 ^b

¹⁾Values are mean ± standard error

^{ab} Means in the same row with the same superscript letter are not significantly different(P<0.05) by DMRT(Duncan's new multiple range test).

Control : TMR, T1: TMR + 0.1% Bacteriophage feed, T2: TMR + 0.2% Bacteriophage feed

5) 분변 미생물 변화

Bacteriophage 사료 첨가제로 급여하는 목적은 위내 박테리아에 제거를 목적으로 하고 특정 질병원으로부터 소 자체의 면역성을 높이는 방법이다. 그래서 생체내의 박테리아 목적으로 하는 박테리오파지의 효과를 최종적으로 검증할 수 있는 결과는 분변의 미생물 분포 및 이 중 박테리오파지가 인지할 수 있는 미생물의 제거 양상을 측정하기 위하여 사용되었으며 본 실험에서는 따른 한우 비육우의 분변 미생물 변화를 조사한 결과는 Table 8에 나타내었다. 본 실험에서 실제, 유의성이 나타나는 항목은 보이지 않고 있다. 6개월간 실험을 진행하면서 유산균이 대조구에 비하여 처리구에서 증가함이 관찰되었는데, 이것은 아마 반추동물에서 유해한 미생물이 제거되면서 미생물의 우점 현상에 의하여 유익한 균이 좀 더 증식한 것으로 판단된다. 그런데 이상하게도 박테리오파지를 더 처리한 T2에서 T1 보다 변화가 작은 것이 관찰되는데, 정확한 이유는 좀 더 실험을 진행해 봐야 알 수 있지만, 박테리오파지의 처리 수준이 차이를 만들 수도 있을 것 같다. 좀 더 다른 비율로 실험을 진행한다면 좀 더 정확한 결과를 얻을 수 있다고 생각한다. 대장균의 경우 처리구와 대조구에서 큰 유의성은 발견할 수 없었다. 이상의 결과를 볼때 반추동물의 경우는 그 자체에 수없이 많은 미생물들이 존재하면서 자신들의 역할을 담당하는데 그 미생물 자체의 박테리오파지를 공유하지 않는다면 반추위에서 그리 좋은 결과를 얻지 못할 것으로 판단된다.

Table 8. Effect of bacteriophage feed on the colony forming units(CFU) of *E.coli*, *Salmonella*, *Lactobacilli* and total bacteria in the feces of Korean cow

Items	Control	T1	T2
0days			
total bacteria	6.88±0.22 ¹⁾	6.58±0.31	6.82±0.19
<i>E.coli</i>	5.25±0.40	5.47±0.16	5.60±0.30
<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND
<i>Lactobacilli</i>	6.51±0.18	5.92±0.54	6.01±0.21
2month			
total bacteria	6.91±0.16	7.14±0.30	7.07±0.28
<i>E.coli</i>	5.46±0.71	5.54±0.58	6.04±0.20
<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND
<i>Lactobacilli</i>	6.80±0.21	6.66±0.38	6.75±0.41
4month			
total bacteria	6.71±0.29	6.46±0.21	6.55±0.20
<i>E.coli</i>	5.01±0.25	4.57±0.18	4.82±0.29
<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND
<i>Lactobacilli</i>	6.38±0.23	6.10±0.18	6.36±0.25
6month			
total bacteria	6.87±0.22	6.75±0.11	7.02±0.13
<i>E.coli</i>	4.80±0.49	4.56±0.22	5.40±0.17
<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND
<i>Lactobacilli</i>	6.35±0.28	6.40±0.17	6.81±0.17

¹⁾Values are mean ± standard error

Control : TMR, T1: TMR + 0.1% Bacteriophage feed, T2: TMR + 0.2% Bacteriophage feed

V. 요약

‘항생제’는 “미생물에 의하여 만들어진 물질로서, 다른 미생물의 성장이나 생명을 막는 물질”을 말하며, 세균뿐만 아니라 인체 세포에도 해로우며 아무리 좋은 항생제라 하더라도 인체 세포에 많은 영향을 끼친다면 치료제로 사용할 수 없다.

축산분야에서 항생제 사용은 병원성 미생물 감염치료에 유용하게 사용되어 왔으나, 항생제 남용으로 인하여 축산물 내 항생물질 잔류, 항생제 내성증가 및 부작용 등을 유발시킬 우려가 높아 그 대안으로 항생제 대체물로 생균제가 사용되고 있으며, 최근에는 병원성 미생물 감염에 따른 질병예방, 치료, 병원성 미생물제거 등의 목적으로 Bacteriophage가 큰 관심을 갖고 있다.

Bacteriophage는 자연계 어디든지 존재하는 생물체이며 용균성과 용원성으로 구분하는데 축산분야는 용균성이 사용되고 있으며, 항생제와 달리 높은 숙주 특이성으로 목적하는 병원성 세균만을 사멸을 시키고 산업적으로 저 비용으로 처리 할 수 있는 장점이 있다.

본 연구는 Bacteriophage의 친환경 제제를 활용하여 한우의 생산성 증대에도모하고 양축농가들에게는 친환경 축산 사양기술을 전파하고 소비자들에게 친환경 축산물을 제공하고자 수행하였다.

한우 비육우 30두를 공시하여 3처리구 10두씩 배치하여 6개월간 사양실험을 실시하여 사양성적, 도체등급, 혈액학적 정상, 혈중 면역항체 조사, 분변 미생물을 조사를 실시하였다.

Bacteriophage 첨가 수준에 따른 한우비육우에 미치는 영향을 알아본 결과, 증체량 및 사료요구율은 무첨가구와 0.1% bacteriophage첨가구가 0.2% bacteriophage 첨가구에 비해 유의적으로 높았다. 혈액의 화학적 정상 및 혈중 면역항체 함량을 측정된 결과, 적혈구 수치와 IgG 및 IgA가 bacteriophage첨가구에서 유의적으로 높았다. 이러한 결과로 봤을 때 한우비육우 사료 내 bacteriophage의 적정 첨가수준은 0.1%로 사료된다.

항생제 남용은 슈퍼박테리아의 출현 등을 야기하며 그에 따른 부작용은 엄청난 재난을 유발 할 수 도 있고 우리나라를 비롯한 여러나라에서도 축산업에서

항생제의 첨가를 강력하게 규제하여 안전하고 위생적인 축산물을 공급하려고 노력하고 있다. 매년 쌀 소비량은 줄어들고 축산물 소비량은 증가하고 있는 현실이다. 소비자들이 축산물을 안전하게 소비 할 수 있도록 친환경적 체제를 사용한 사양기술 보급이 필요하다고 사료된다.

핵심어 : 한우, Bacteriophage

Effects of Korean Cow in Accordance with the Level of Bacteriophage added

Kim, Kyoung-Ho

(Supervised by Professor Kang, Min-Soo)

Abstracts

Antibiotics are chemicals that kill or inhibit the growth of bacteria and are used to treat bacterial infections. They are produced in nature by soil bacteria and fungi. An antibiotic can also be classified according to the range of pathogens against which it is effective. Antibiotics take advantage of the difference between the structure of the bacterial cell and the host's cell, allowing the host's defense mechanism to fight the infection or kill the bacteria. However, some antibiotics can be extremely effective against certain bacteria but may not work to treat other bacteria. That's why it is important to treat bacteria with the correct antibiotic.

In the 20th century, livestock and poultry producers also incorporated antibiotics into their comprehensive animal husbandry practices that also include clean water and nutritious food for their animals, shelter from heat and cold, vaccinations and medical treatment when needed. The problem with feeding antibiotics to animals with high doses to treat infections to “knock out” an infection - may actually trigger some bacteria to become resistant and creates the perfect environment for antibiotic-resistant bacteria to multiply and thrive. Another reason for caution: when an antibiotic is

administered, it impacts the entire population of bacteria in the body. Clearly, it is essential that veterinarians exercise their medical judgment and careful oversight of antibiotic use in livestock and poultry production.

One of the possible replacement options for antibiotics is the use of bacteriophages as antimicrobial agents. Bacteriophage target individual strains and species of bacteria. Although bacteria can become resistant to phages, phage resistance is not nearly as worrisome as drug resistance.

Bacteriophages are very specific to their hosts, so this minimizes the chance of secondary infections, and also, bacteriophages replicate at the site of infection where they are mostly needed to lyse the pathogens.

In the area of animal bio-control and agribusiness options, phages have shown a remarkable success. Phages have been extremely effective at treating a number of bacterial infections in controlled animal studies, especially as a bio-control agent in the prevention of food-borne illnesses.

This study was planned to increase beef productivity by utilizing eco-friendly formulations of bacteriophage and spread environmentally friendly livestock technical specifications for the axes to provide environmentally friendly livestock farms and perform to the consumer.

The experiment was planned for 6 months using 30 cattle were divided into three treatment group and each consisted with 10 cattles. During the treatment period, conductor grade, hematological properties, antibody immune serum, fecal microorganisms were surveyed. The result showed the impact of bacteriophage on the cattle beef. The supplement with bacteriophage in the feed can increase weight gain and feed conversion ratio significantly compared with the 0.1% bacteriophage-free sphere apex. Furthermore impact on blood serum immune antibodies of the beef cattle, IgG and IgA

and red blood cell levels have shown higher significantly in bacteriophage apex. Adequate level of bacteriophage added in Korea cow feed is about 0.1%.

This study showed requirement of safe livestock production technology for the consumers with environmentally friendly formulations. The key to successful use of phages in modern scientific, farm, food processing and clinical applications is to understand the common obstacles as well as best practices and to develop answers that work in harmony with nature.

Key words: Korean cow, Bacteriophage

참고 문헌

- Bal, M., J. Coors, and R. Shaver. 1997. Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion, and milk production. *J. Dairy Sci.* 80:2497-2503.
- Bolsen, K. K., B. E. Brent, and J. T. Dickerson. 1991. Hay and silage in the 1990s, KK Bolsen, J. Baylor, ME McCollough, Editors. *Hay and Silage Management in North America*. National Feed Ingrid. Assoc. Des Moines, IA.
- Butler, G. W., and R. W. Bailey. 1973. *Chemistry and biochemistry of herbage*. Vol 2.
- Chaney, A. L., and E. P. Marbach. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical chemistry*. 8:130-132.
- Charmley, E., and D. Veira. 1990. Inhibition of proteolysis at harvest using heat in alfalfa silages: effects on silage composition and digestion by sheep. *J. Anim. Sci.* 68:758-766.
- Cleale, R. et al. 1990. Effect of Inoculation of Whole Plant Corn Forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosus* on Preservation of Silage and Heifer Growth. *J. Dairy Sci.* 73:711-718.
- Demarquilly, C., and J. Dulphy. 1977. Effect of ensiling on feed intake and animal performance. In: *Proc. Int Meet. Anim. Prod. Temp. Grassl. Dublin. Ireland*. pp. 53-61.
- Demarquilly, C., and R. Jarrige. 1970. The effect of method of forage

conservation on digestibility and voluntary intake. In: Proc. 11th int. Grassl. Congr. Surfers Paradise. pp. 733-737.

Ekern, A., O. Saue, and L. Vik-Mo. 1975. Silage research in northern Europe. In: Technological papers presented at 2nd International Silage Research Conference: Hyatt Regency Chicago. p. 127.

Ferret, A., J. Plaixats, G. Caja, J. Gasa, and P. Prio. 1999. Using markers to estimate apparent dry matter digestibility, faecal output and dry matter intake in dairy ewes fed Italian ryegrass hay or alfalfa hay. *Small Ruminant Research*. 33:145-152.

Fisher, L., J. Lessard, and G. Lodge. 1972. Whole crop barley as conserved forage for lactating cows. *Canadian J. Anim. Sci.* 52:497-504.

Fitzgerald, J. 1996. Grass silage as a basic feed for store lambs. 1. Effect of wilting, chop length and stage of maturity of grass silage on intake and performance of store lambs. *Grass and Forage Sci.* 51:363-377.

Flachowsky, G., and M. Grün. 1992. Influence of type of diet and incubation time on major elements release in sacco from Italian ryegrass, untreated and ammonia-treated wheat straw. *Anim. Feed Sci. Tech.* 36:239-254.

Gordon, C., J. Derbyshire, and P. Van Soest. 1968. Normal and late harvesting of corn for silage. *J. Dairy Sci.* 51:1258-1263.

Gordon, F. 1989. An evaluation through lactating cattle of a bacterial inoculant as an additive for grass silage. *Grass and Forage Sci.* 44:169-179.

- Goto, M., O. Morita, K. Nishiwaki, and A. Nakashima. 1991. Feeding value of rice whole crop silage as compared to those of various summer forage crop silages. *Anim. Sci. Tech.* 62:54-57.
- Haigh, P. 1996. The effect of dry matter content and silage additives on the fermentation of bunker-made grass silage on commercial farms in England 1984-91. *J. Agric. Engineering Research.* 64:249-259.
- Haresign, W., and D. Cole. 1981. Recent developments in ruminant nutrition. Butterworths London. p. 367.
- Harrison, J., S. Soderlund, and K. Loney. 1989. Effect of inoculation rate of selected strains of lactic acid bacteria on fermentation and *in vitro* digestibility of grass-legume forage. *J. Dairy Sci.* 72:2421-2426.
- Henderson, A., and P. McDonald. 1976. The effect of formic acid on the fermentation of ryegrass ensiled at different stages of growth and dry matter levels. *Grass and Forage Sci.* 31:47-51.
- Henderson, A., D. Neilson, and D. Anderson. 1987. Biological Additives for Grass Silage. *Efficient Beef Production from Grass. Occ. Symp.* 22:152-158.
- Johnson, R. R., and K. McClure. 1968. Corn plant maturity. IV. Effects on digestibility of corn silage in sheep. *J Anim. Sci.* 27:535-540.
- Keady, T., R. Steen, D. Kilpatrick, and C. Mayne. 1994. Effects of inoculant treatment on silage fermentation, digestibility and intake by growing cattle. *Grass and Forage Sci.* 49:284-294.
- Keady, T., and J. Murphy. 1996. Effects of inoculant treatment on ryegrass

silage fermentation, digestibility, rumen fermentation, intake and performance of lactating dairy cattle. *Grass and Forage Sci.* 20:232-241.

Kung Jr, L., and R. E. Muck. 1997. Animal response to silage additives. *Silage: Field to Feedbunk*:200-210.

Manninen, M. et al. 2008. Effects of outdoor winter housing and feeding level on performance and blood metabolites of suckler cows fed whole-crop barley silage. *Livestock Sci.* 115:179-194.

Marsh, R. 1996. The effects of wilting on fermentation in the silo and on the nutritive value of silage. *Grass and Forage Sci.* 34:1-10.

Mayne, C. 1990. An evaluation of an inoculant of *Lactobacillus plantarum* as an additive for grass silage for dairy cattle. *Anim. Prod.* 51:1-13.

Mayne, C. 1993. The effect of formic acid, sulphuric acid and a bacterial inoculant on silage fermentation and the food intake and milk production of lactating dairy cows. *Anim. Prod.* 56:29-42.

McAllan, A., and R. Phipps. 1977. The effect of sample date and plant density on the carbohydrate content of forage maize and the changes that occur on ensiling. *J. Agric. Sci.* 89:589-597.

McDonald, P. 1981. The chemistry of silage. John Wiley & Sons, Ltd. pp. 62-74.

McDonald, P., Henderson, A. R. and Heron, S. J. E. 1991. *Biochemistry of silage*. Second Edition, Chalcombe Publications, Marlow, UK.

- Muck, R., and L. Kung Jr. 1997. Effects of silage additives on ensiling. In: Field to Feedbunk North American Conference Hershey, PA. NRAES:99.
- Nsereko, V. L. et al. 2008. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Anim. Feed Sci. Tech.* 145:122-135.
- Ogawa, M. 2003. Research of whole crop rice silage utilization in Japan. Animal Technology Research Laboratory. International Seminar Proceedings. pp. 25-58.
- Ohyama, Y., and P. McDonald. 1975. The effect of some additives on aerobic deterioration of silages. *J. Sci. Food and Agric.* 26:941-948.
- Pahlow, G., and E. Zimmer. 1985. Effect of a *Lactobacillus* inoculant on fermentation and aerobic stability of grass silage. *Japanese Society of Grassl. Sci.* 83:526-535.
- Patterson, D., C. Mayne, F. Gordon, and D. Kilpatrick. 1997. An evaluation of an inoculant/enzyme preparation as an additive for grass silage for dairy cattle. *Grass and Forage Sci.* 52:325-335.
- Phillip, L. E., L. Underhill, and H. Garino. 1990. Effects of treating lucerne with an inoculum of lactic acid bacteria or formic acid upon chemical changes during fermentation, and upon the nutritive value of the silage for lambs. *Grass and Forage Sci.* 45:337-344.
- Phipps, R., and R. Weller. 1979. The development of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. *J. Agric. Sci. Cambridge.* 92:471-483.

- Pitt, R., R. Muck, and N. Pickering. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage. *Grass and Forage Sci.* 46:301-312.
- Playne, M., and P. McDonald. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food and Agric.* 17:264-268.
- Qiu, X., M. Eastridge, and Z. Wang. 2003. Effects of corn silage hybrid and dietary concentration of forage NDF on digestibility and performance by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3667-3674.
- Russell, J., N. Irlbeck, A. Hallauer, and D. Buxton. 1992. Nutritive value and ensiling characteristics of maize herbage as influenced by agronomic factors. *Anim. Feed Sci. Tech.* 38:11-24.
- Seale, D. 1986. Bacterial inoculants as silage additives. *J. Applied Bacteriology.* 61:9-26.
- Seo, S. 2009. Development of New Varieties and Production of Forages in Korea. *J. Korean Society of Grassl. Forage Sci.* 29:1-10.
- Smith, E. et al. 1993. The influence of an inoculant/enzyme preparation as an additive for grass silage offered in combination with three levels of concentrate supplementation on performance of lactating dairy cows. *Anim. Prod.* 56:301-310.
- Steen, R. et al. 1989. Evaluation studies in the development of a commercial bacterial inoculant as an additive for grass silage. *Grass and Forage Sci.* 44:381-390.
- Stokes, M. 1992. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their

- interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.* 75:764-773.
- Thomas, J., L. Brown, R. Emery, E. Benne, and J. Huber. 1969. Comparisons between alfalfa silage and hay. *J. Dairy Sci.* 52:195-204.
- Van Soest, P., and R. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Official Analytical Chemists.* 50:50-55.
- Vetter, R., and K. Von Glan. 1978. Abnormal silages and silage related disease problems. *Fermentation of Silage a Review*:281-332.
- Vetter, R., and K. Von Glan. 1978. Abnormal silages and silage related disease problems. *Fermentation of Silage a Review*:281-332.
- Waldo, D. 1977. Potential of chemical preservation and improvement of forages. *J. Dairy Sci.* 60:306-326.
- Wiersma, D., P. Carter, K. Albrecht, and J. Coors. 1993. Kernel milkline stage and corn forage yield, quality, and dry matter content. *J. Prod. Agric.* 6:94-99.
- Woolford, M. K. 1984. *The silage fermentation.* Marcel Dekker, Inc. New York and Basel. p. 350.
- Yan, T., D. Patterson, F. Gordon, and M. Porter. 1996. The effects of wilting of grass prior to ensiling on the response to bacterial inoculation. 1. Silage fermentation and nutrient utilization over three harvests. *Anim. Sci.* 62:405-418.

Zimmer, E. 1977. Factors affecting fodder conservation. Proc. Int. Meet, on Anim. Prod. from Temp. Grassl. Dublin, Ireland. 30:186-197.

'96 한국낙농연감. 1996. 필방. p. 454.

고영두, 강우성, 강한석, 김대진, 김두환, 김재황, 남기홍, 류영우, 송영민, 신정남, 유성오. 1999. 반추가축을 위한 사일리지 제조 전략. pp. 5-41.

국길, 이병철, 김원호, 장기영, 백광수, 문승주, 김광현. 2011. 총체보리사일리지 급여가 한우 거세우의 생산성 및 육질특성에 미치는 영향. 한국축산식품학회지. 31:107-114.

국립축산과학원. 2010. 이탈리아 라이그라스 봄철 관리와 수확이용. 종축개량지. 4:43-49.

김동암. 2000. 수확시 숙기가 호밀 라운드베일 사일리지의 사료가치 변화에 미치는 영향. 한국초지학회지. 20:309-316.

김병기. 2006. 육성기의 양질조사료 (티머시 건초) 급여가 거세한우의 성장 및 도체특성에 미치는 영향. 한국축산식품학회지. 26:212-217.

김종근. 2002. 표준영농교본. 조사료. 선진문화사.

김희수. 1991. Microencapsulation에 의한 *Lactobacillus acidophilus* IFO 3205의 생존에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문.

농림수산식품부. 2010. 양질 조사료 생산 확대 방안. 농림수산식품부 축산정책과.

농촌진흥청. 2011. 이탈리아 라이그라스 신품종 재배 이용 기술서. pp. 4-37.

- 박기훈. 2008. 동계 사료작물의 신품종 육성현황 및 개발 계획. 한국초지조사료학회 2008 년도 학술심포지엄 및 제 46 회 학술발표회. pp. 49-73.
- 서성. 2006. 총체보리의 사료화 이용기술. 피드저널. 4:84-89.
- 서성. 2008. 한국에서 동계사료작물 [이탈리안라이그라스, 청보리] 생산과 이용. 한국초지조사료학회 2008 년도 학술심포지엄 및 제 46 회 학술발표회. pp. 17-48.
- 서성. 2008. 총체 벼 사일리지용 미생물의 발효능력 평가. 한국초지조사료학회지 28:229-236.
- 임상훈. 1992. 옥수수의 수확시기와 첨가제 및 담압이 silage 품질에 미치는 영향. 서울대학교 박사학위논문.
- 정민웅 et al. 2011. 초지 및 조사료: 이탈리아 라이그라스 및 총체 벼 2 모작 작부체계에 있어서 우분퇴비 사용이 사료작물의 생산성에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 53:469-474.
- 정성래. 1987. 논문: 목초 및 사료작물 재배의 경제성분석-사례조사결과 중심. 한국축산경영학회지. 3:45-57.
- 조원모. 1996. 한우 고급육 생산을 위한 보리총체 사일리지 이용효과. 농촌진흥청 농촌지도사업 활용자료. p. 424.
- 축산과학원. 2007. 한국표준사료성분표. 축산과학원.
- 한인규, 이영철 및 김춘추. 1995. 사료와 영양. 선진문화사.
- 홍성구 et al. 1996. 반추가축영양; 담근먹이 급여가 거세한우의 도체특성에 미

치는 효과. 한국동물자원과학회지. 38:69-76.

황보순. 2007. 총체 보리사일리지를 첨가한 유기 TMR 급여가 흑염소의 사료섭취량, 영양소 소화율 및 혈액성상에 미치는 영향. 한국유기농업학회지. 15:413-424.