

가축의 장관에서 분리되는 *Bifidobacterium*속 세균의 특성조사 및 장내세균총 분포에 관한 연구

이 완 규

충북대학교 수의과대학
(1994년 1월 19일 접수)

Studies on the distribution of intestinal microflora and characterization of *Bifidobacterium* isolated from the intestine of domestic animals

Wan-kyu Lee

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University
(Received Jan 19, 1994)

Abstract : The present study was undertaken to obtain the basic knowledge on the distribution of intestinal microflora and characterization of *Bifidobacterium* isolated from the intestine of cattle, pigs, chicken and dogs. *Bacteroidaceae* and *Streptococcus* were isolated from the feces of cattle as predominant organisms, and *Bifidobacterium* was in counts of $8.65 \pm 0.21 \log_{10}$ organisms. *Bacteroidaceae*, *Eubacterium* and *Peptococcaceae* counts on the feces of pigs were particularly high, but *Bifidobacterium* did not isolated. In hens and dogs, the counts of *Bifidobacterium* were 7.60 ± 0.71 and $8.15 \pm 2.04 \log_{10}$ organism, respectively. Isolated 7 *Bifidobacterium* strains were identified respectively to *B. thermophilum* from cattle, *B. pullorum* and *B. animalis* from pigs, and *B. longum*, *B. adolescentis* and *B. pseudolongum* from dogs by their carbohydrate fermentation ability.

Key words : *Bifidobacterium*, intestinal microflora, domestic animals

서 론

가축의 장관내에 정착되어, 서식하고 있는 다양한 세균군을 정상 장내세균총이라고 부르고 있으며, 그 종류도 100-200여 종류로 다양하고, 군수도 장관 내용물 1g당 10^{10} - 10^{11} (100억개-1000억개)의 매우 높은 상태로 존재하고 있다^{2,17,24,33}. 최근의 보고에 의하면 이와같은 장내세균총은 가축의 영양, 노화, 발암, 면역기능, 장관감염 및 약효 등 다방면에 걸쳐 숙주 체내에 영향을 미치고 있으며^{12,14,32}, 지속적으로 가축의 건강유지 및 질병 예방에 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 밝혀지

고 있다. 따라서 최근에는 유산균 같은 생균제(probiotics)투여에 의한 가축의 생산성 향상 및 질병 예방 효과에 관심이 모아지고 있다^{6,8,18}.

이와 같은 정상 장내 세균총을 구성하는 세균들은 유산을 생성하는 유산균군과, 산소가 존재하는 상태에서는 발육하지 못하는 편성 혐기성세균군 및 산소의 존재 하에서도 발육하는 호기성 세균군(facultative anaerobic bacteria)의 3가지로 크게 나눌 수 있다¹.

가축의 장관내에서는 혐기적상태, 즉 산소가 없는 상태로 유지되고 있으므로, 우세균총을 구성하는 세균도 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae* 등과 같은

* 이 논문은 1991년도 한국학술진흥재단의 지방대학육성과제 연구비에 의하여 연구되었음

편성 혐기성 세균들이 높은 군수로 존재하고 있으며, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Yeast* 등의 호기성 세균은 낮은 군수를 유지하고 있다.^{1,24}

또한 유산균군에서도 편성 혐기성 유산균인 *Bifidobacterium*²⁵이 현재까지 잘 알려진 *Lactobacillus*, *Streptococcus* 등과 같은 호기성 유산균보다, 장관내에서 100-1000배 이상 많이 존재하는 것으로 알려지고 있다. 그러나 *Bifidobacterium*을 포함한 편성 혐기성 세균군은 그 배양 및 조작이 공기에 노출되지 않는 혐기적 상태에서 이루어져야 하는 방법상의 어려움 때문에, 아직도 우리나라에서는 많은 연구가 이루어지지 못한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 한국의 중요한 가축인 소, 돼지, 닭과 애완동물의 가장 대표적인 개를 대상으로, 장관내에 분포하고 있는 장내 세균총을 분리, 검색하고, 혐기성 유산균인 *Bifidobacterium*의 분포조사 및 세균학적 동정과 특성조사를 실시하여, 가축용 생균제개발에 필요한 학문적 기초 조사를 본 연구의 목적으로 하였다.

재료 및 방법

대상동물 : 1991년 9월부터 1992년 8월까지, 충북지역에서 건강한 상태의 소, 돼지, 닭 및 개를 각각 5마리씩 선발하여, 총 20마리를 사용하였다. 소는 2살된 젖소(Holstein) 및 한우이었으며, 돼지(Landrace)는 4개월령의 이유자돈을 사용하였다. 닭(Leghorn)은 1년된 산란계였으며, 개는 1살된 잡견이었다.

장내 세균총 검색용 배지 : 가축의 다양성 장내 세균총을 동시에 모두 검색하기 위하여, TS, EG, BL의 비선택배지^{19,24} 3종류와 DHL, PEES, TATAC, LBS, BS, VS, NBGT, ES, NN의 선택배지^{19,24} 9종류, 합계 12종의 배지를 사용하였다. 각 사용 배지의 종류, 목적, 배양 방법 및 배양 시간은 Table 1에 나타내었다.

장내세균총의 검색 방법 : 각 가축의 신선한 분변을 채취한 후, 즉시 수송배지인 BHI broth에 넣어, 실험실로 수송해온 뒤 O₂-free CO₂ gas로 치환시킨 후, 혐기적 희석액인 diluent B로 10배 단계 희석을 실시하였다.^{13, 24} 각 단계 희석액을 무균적으로 0.05ml씩 각각의 평판 배지에 1/3-1/4 구획에 접종한 후, 멸균된 spreader로 도말하였다. TS, DHL, PEES 배지는 37℃에서 호기배양을 하였으며, EG, BL, BS, ES, VS, NN, LBS는 anaerobic jar에 Steel wool method^{26,27}를 사용하여 혐기배양(37℃, 48h)을 하였다.

배양 종료 후, 각각의 평판배지에서 배양된 colony의 morphology를 기입한 후, 군수를 측정하고, 백금으로 colony를 띄어내 slide glass에 도말표본을 만들고, Gram stain을 실시하였다. *Bifidobacterium* 속 세균은 BL 배지에 순수배양시켜 당분해 성상검사에 사용하였다. 그후 현미경으로 1000배에서 cell morphology를 확인한 후 분변에 존재하는 균군을 확인하였다²⁴.

***Bifidobacterium* 사용 균주** : 가축의 장내세균총을 검색한 결과, 분리된 *Bifidobacterium* 중에서, 장관내 분포도가 높은 7균주(LBI-1,2,3,4,5,6,7)를 선발하여, 당분해 성상 검사에 사용하였다.

***Bifidobacterium*의 당분해 성상검사** : 사용균주 7균주의 당분해 성상 검사를 위해, 사용한 당은 arabinose, xylose, rhamnose, ribose, glucose, mannose, fructose,

Table 1. The media and cultural method used in this study for comprehensive investigation of intestinal flora in domestic animals

Medium	Organisms usually enumerated	Incubation method	Incubation time(days)
Non-selective media			
EG agar	Anaerobes	Steel wool method	2
BL agar	Anaerobes	Steel wool method	2
TS agar	Aerobes	Aerobic culture	1
Selective media			
BS agar	<i>Bifidobacterium</i>	Steel wool method	2
ES agar	<i>Eubacterium</i>	Steel wool method	2
NBGT agar	<i>Bacteroidaceae</i>	Steel wool method	2
VS agar	<i>Veillonellae</i>	Steel wool method	2
NN agar	<i>Clostridium</i>	Steel wool method	2
LBS agar	<i>Lactobacillus</i>	Steel wool method	2
DHL agar	<i>Enterobacteriaceae</i>	Aerobic culture	2
PEES agar	<i>Staphylococcus</i>	Aerobic culture	2
TATAC agar	<i>Streptococcus</i>	Aerobic culture	2

galactose, sucrose, maltose, cellobiose, lactose, trehalose, melibiose, raffinose, melezitose, starch, inulin, mannitol, sorbitol, inositol, esculin, salicin, amygdalin의 24종류이었다^{13,16}.

24종류의 당을 각각 0.5% 농도(단 esculin과 amygdalin은 0.25%)로 기초배지(basal medium)인 PYF broth에 용해시킨 후, 이것을 cap tube에 3ml씩 분주시킨 후, 115℃, 20분간 멸균하였다. 그러나 arabinose, xylose, rhamnose, ribose, mannose, fructose, maltose의 7종류는 autoclave과정에서 쉽게 파괴되므로, 10% 수용액으로 만들어, membrane filter(pore size, 0.45 μ m, Nuclepore)로 여과 멸균시킨 후, 미리 115℃, 20min.에서 멸균시켜 놓은 PYF broth에 무균적으로 첨가하여, 멸균된 cap tube에 무균적으로 분주하였다^{20,21}.

이상과 같이 제조된 당분해 성장 검사 배지에, EGF에서 배양시킨 접종 균액을 접종시킨 후, 7일간 steel wool method를 사용하여 37℃에서 혐기 배양하였다. 배양 종료 후 당을 첨가하지 않은 PYF에 균을 접종한 control의 pH를 대조로 사용하여 당분해 성상을 판정하였다. pH 6.0이상은 음성(-), pH 5.5-5.9는 week(w), pH 5.4이하는 양성(+)으로 판정하였다. pH meter는 Model HM-7E(TOA Electronics Ltd.)을 사용하였다.

결 과

가축의 정상 장내세균총을 검색한 결과를 Table 2에

비교하였다.

젖소 및 한우의 정상 장내세균총 : 젖소 및 한우의 정상 장내세균총을 구성하는 최우세균총은 편성형기생 간균인 *Bacteroidaceae*이었으며, 5마리의 평균 균수±표준편차는 log 10으로 환산하여 8.08±0.90이었다. 호기성 세균 중에서는 *Streptococcus*가 8.50±1.25로 최우세균총을 구성하였으며; 다음으로 *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Lactobacillus*가 각각 6.78±1.25, 6.38±1.39, 5.52±1.08의 균수를 나타내었다. *Bifidobacterium*은 8.65±0.21로 높은 균수를 나타내었지만, 젖소에서는 검출되지 않고 한우 2마리에서만 검출되었다. 총균수는 검색한 가축종에서 제일 낮은 8.92±0.97을 나타내었다.

이유자돈의 정상 장내세균총 : 혐기성 세균에서는 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae*의 순서로 각각 9.04±0.48, 8.83±0.28, 8.20±0.72의 균수를 나타내었다. 호기성 세균에서는 *Enterobacteriaceae*가 7.25±0.68로 비교적 높게 분리되었으며, *Staphylococcus*, *Esacillus*, *Yeast*는 낮은 검출률과 균수를 나타내었다. 유산균중에서는 다른 가축과 달리 *Bifidobacterium*이 5마리 모두에서 전혀 검출되지 않았으며, 대신 *Streptococcus*와 *Lactobacillus*가 각각 9.12±0.75, 8.55±0.59로 높게 분포하고 있었다. 이유자돈의 분변 1g당 총균수는 9.64±0.50이었다.

산란계의 정상 장내세균총 : 1년생 산란계의 정상 장내세균총을 검색한 결과, *Bacteroidaceae*가 5마리 모두에서 9.34±0.18의 균수로 최우세균총을 구성하였으

Table 2. Comparison of the intestinal microflora in cattle, pig, chicken and dog.

Bacterial groups	Cattle (N=5)	Pig (N=5)	Chicken (N=5)	Dog (N=5)
<i>Enterobacteriaceae</i>	6.78±1.25(5) ^a	7.25±0.68(4)	8.86±0.54(5)	8.76±0.54(5)
<i>Streptococcus</i>	8.50±1.25(5)	9.12±0.75(5)	8.22±1.28(5)	9.24±0.32(5)
<i>Staphylococcus</i>	5.10±2.11(4)	6.50 (1)	7.05±0.82(4)	5.48±1.51(5)
Yeast	2.90 (1)	1.90 (1)	2.10 (1)	3.10 (1)
<i>Bacillus</i>	6.38±1.39(5)	7.20±1.70(2)	8.38±0.43(4)	9.07±0.55(3)
<i>Lactobacillus</i>	5.52±1.08(5)	8.55±0.59(4)	8.96±0.34(5)	8.78±1.14(4)
<i>Bifidobacterium</i>	8.65±0.21(2)	-	7.70±0.71(2)	8.15±2.04(4)
<i>Eubacterium</i>	7.00±0.78(5)	8.83±0.28(4)	8.54±0.30(5)	8.92±0.29(5)
<i>Bacteroidaceae</i>	8.08±0.90(5)	9.04±0.48(5)	9.34±0.18(5)	10.02±0.50(5)
<i>Peptococcaceae</i>	- ^b	8.20±0.72(3)	-	-
<i>Clostridium</i>	-	-	8.23±0.75(4)	8.58±0.30(4)
<i>Veillonella</i>	6.40±0.42(2)	-	-	7.00 (1)
<i>Megasphaera</i>	5.90 (1)	-	8.40±0.22(4)	8.70 (1)
Total counts	8.92±0.97(5)	9.64±0.50(5)	9.78±0.13(5)	10.26±0.30(5)

^a Mean±S.D. of log₁₀ counts of bacteria/g of feces; Figures in parentheses refer to the number of subjects that harbor the organisms.

^b Negative in all subjects

Table 3. Biochemical characteristics of *Bifidobacterium* strains isolated from the intestine of domestic animals

	LBI-1	LBI-2	LBI-3	LBI-4	LBI-5	LBI-6	LBI-7
Cell morphology	R ^a	R	R	R	R	R	R
Gram reaction	+	+	+	+	+	+	+
Aerobic growth	-	-	-	-	-	-	-
Isolated from;	Cattle	Cattle	Hen	Hen	Dog	Dog	Dog
Acid from:							
Arabinose	-(6.8) ^b	-(6.7)	+(4.7)	+(4.7)	+(4.2)	+(4.2)	+(4.6)
Xylose	-(6.4)	-(6.4)	+(5.3)	+(5.1)	+(4.8)	+(5.1)	+(4.8)
Rhamnose	w(5.6)	-(6.9)	w(5.7)	-(6.5)	w(5.7)	-(6.7)	w(5.8)
Ribose	-(6.9)	-(7.0)	+(4.2)	+(4.2)	+(4.4)	+(4.1)	+(4.6)
Glucose	+(4.3)	+(4.2)	+(4.0)	+(4.1)	+(4.1)	+(4.1)	+(4.2)
Mannose	-(6.8)	-(6.7)	+(4.0)	-(6.9)	-(6.9)	-(6.9)	+(4.1)
Fructose	+(4.4)	+(4.3)	+(4.1)	+(4.1)	+(4.2)	+(4.9)	+(4.2)
Galactose	+(4.7)	+(4.6)	+(4.9)	+(4.9)	+(4.6)	+(4.2)	+(4.9)
Sucrose	+(4.1)	-(6.6)	+(5.4)	+(5.4)	+(4.2)	+(4.1)	+(4.2)
Maltose	+(4.2)	-(6.2)	+(4.4)	+(5.4)	+(4.2)	+(4.0)	+(4.3)
Cellobiose	-(7.0)	-(6.4)	-(6.1)	w(5.7)	+(4.2)	-(7.0)	w(5.6)
Lactose	+(4.5)	+(4.4)	-(6.6)	+(5.4)	+(4.7)	+(5.3)	w(5.7)
Trehalose	+(4.4)	-(6.9)	+(4.7)	-(6.5)	-(6.7)	-(7.1)	-(6.7)
Melibiose	+(4.6)	-(7.1)	+(5.0)	+(5.4)	+(4.5)	+(4.6)	+(5.4)
Raffinose	w(5.7)	-(6.9)	+(5.3)	+(5.2)	+(4.7)	+(4.6)	+(5.3)
Melezitose	-(6.7)	-(6.8)	-(6.3)	-(6.1)	+(5.1)	+(5.2)	+(4.6)
Starch	+(5.1)	-(6.3)	-(6.0)	+(5.2)	+(4.7)	-(6.2)	+(5.3)
Inulin	-(7.1)	-(6.1)	+(5.2)	-(6.8)	-(6.3)	-(6.6)	-(6.6)
Mannitol	-(6.8)	-(6.2)	-(6.9)	-(6.6)	w(5.8)	-(6.5)	-(6.7)
Sorbitol	-(6.4)	-(6.8)	-(6.4)	-(6.5)	w(5.9)	-(7.0)	-(6.6)
Inositol	-(6.5)	-(6.8)	-(6.2)	-(6.7)	-(7.2)	-(7.0)	-(6.7)
Esculin	+(5.2)	-(6.8)	w(5.7)	w(5.6)	+(5.4)	-(6.1)	-(6.7)
Ealicin	+(4.5)	-(6.3)	w(5.9)	w(5.8)	+(5.2)	-(6.7)	w(5.8)
Amygdalin	+(4.9)	-(6.0)	-(6.4)	w(5.8)	+(4.9)	-(6.0)	w(5.8)

^a R, Rods

^b +, positive(pH below 5.5); w, weak reaction(pH 5.5-5.9); -, negative; Figures in parentheses refer to the pH value.

며, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Megasphaera*가 높은 군수로 분포하였다. 특히 소 및 돼지에서와는 달리 유해세균인 *Clostridium*속 세균이 8.23 ± 0.75 로 높게 분포하였다. 호기성 세균에서는 *Enterobacteriaceae*가 가장 우세하게 검출되었으며, *Bacillus*, *Staphylococcus*가 중등도의 군수로 분리되었다. 유산균군 중에서는 호기성의 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*가 각각 8.96 ± 0.34 , 8.22 ± 1.28 로 높게 분포하고 있었으며, 편성 혐기성의 *Bifidobacterium*은 2마리에서만 7.60 ± 0.71 로 분포하고 있었다. 산란계에서의 분변 1g당 총균수는 9.78 ± 0.13 이었다

개의 정상 장내세균총 : 혐기성 세균에서는 *Bacteroidaceae*가 10.02 ± 0.50 으로 다른 가축에서와 같

이 최우세균총을 구성하였으며, 그 외 *Eubacterium*, *Clostridium*이 우세균총을 구성하였다. 호기성 세균에서는 *Enterobacteriaceae*와 *Staphylococcus*가 가장 높게 분포하였다. 유산균 중에서는 *Streptococcus*가 5마리 모두에서 9.24 ± 0.32 로 제일 높은 군수를 유지하였으며, *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*은 5마리중 4마리에서 8.78 ± 1.14 , 8.15 ± 2.04 의 군수로 각각 분리되었다. 개의 총균수(Total counts)는 다른 동물과 달리 분변 1g당 10.26 ± 0.30 으로 가장 높게 나타났다.

가축에서 분리된 *Bifidobacterium*의 당분해 특성검사와 결과 : 가축에서 분리된 *Bifidobacterium* 중에서 장관 내 분포도가 높은 7균주를 선발하여, 당분해성상에 의한 세균학적 동정과 특성조사를 실시한 결과를 Table

3에 나타내었다. 그 결과 한우에서 분리된 *Bifidobacterium* 중에서, LBI-1은 *Bifidobacterium thermophilum* 으로 동정되었으며, LBI-2는 동정 불능 균주(unknown)이었다. 산란계에서 분리된 LBI-3, LBI-4는 각각 *B. pullorum*과 *B. animalis*로 동정되었다. 애완동물의 대표적인 개에서 분리된 LBI-5, LBI-6, LBI-7은 각각 *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. pseudolongum*으로 동정되었다.

고 찰

가축의 사료 효율이나 증체율은 가축의 유전학적 원인, 사료의 영양학적 원인 또는 사양관리, 질병 발생 등의 여러 요인에 의해 좌우되고 있다. 1950년대 이후에 항생제를 미량으로 사료에 첨가함으로써, 유해세균의 증가를 억제시켜, 가축의 성장을 촉진시킬 수 있다는 사실이 밝혀진 이후, 현재까지 많은 종류의 항생제가 사료에 첨가되어 가축의 질병 예방 및 증체율 개선에 많은 공헌을 하여 왔다^{11,12}. 그러나 최근에는 사료첨가 항생제의 잔류 독성 문제 또는 내성 균주의 출현 등으로 점차 그 사용이 규제되어 질 전망이다. 따라서 사료 첨가 항생제의 역할을 대신할 수 있으며, 가축 및 인체에 무해한 유산균과 같은 생균제(probiotics)의 사용이 주목을 받기 시작하였다.^{3,4,15,22}

그러나 아직 우리나라에서는 probiotics 개발의 학문적 기초가 되는 가축의 정상 장내세균총에 대한 체계적인 연구가 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 한국의 가축중에서 중요한 소, 돼지, 닭 및 개를 대상으로, 장관내에 분포하고 있는 장내 세균총을 분리, 검색하고, 혐기성 유산균인 *Bifidobacterium*의 분포 조사 및 세균학적 동정과 특성조사를 실시하여, 가축용 생균제(probiotics) 개발에 필요한 학문적 기초 조사를 실시하였다. 그 결과 *Bifidobacterium*은 젖소에서는 검출되지 않고, 한우에서만 분리되었으며, 분리균주는 *B. thermophilum*으로 동정되었다. 돼지에서는 특이적으로 *Bifidobacterium*이 전혀 검출되지 않았으며, 닭에서는 *B. pullorum*과 *B. animalis*가 분리되었다. 또 개에서는 *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. pseudolongum*이 분리되었다.

소의 장내세균총에 대한 연구들에 의하면, 소는 대체로 분변 1g당 총균수가 낮고, *Bacteroidaceae*가 우세균총을 이루고 있으며, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*는 연령이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보이고 있다.^{7,25,28} 본 연구에서는

편성 혐기성 유산균인 *Bifidobacterium*이 젖소에서는 검출되지 않고, 한우에서만 분변 1g당 log 10으로 환산하여 8.65 ± 0.21 의 균수로 분리되었는데, 이와 같은 결과는 젖소와 한우의 사양관리의 차이에서 나타나는 것으로 추측되며, 그 중에서 사료첨가 항생제가 가장 큰 요인으로 생각된다. 한편 유산균중에서 *Lactobacillus*는 젖소와 한우 모두 낮게 분포하였지만 *Streptococcus*는 젖소와 한우 모두에서 최우세균총을 구성하였다. 따라서 한국의 젖소 및 한우의 유산균중에서 최우세균총은 *Streptococcus*인 것으로 생각된다.

돼지의 장내세균총은 일반적으로 *Bacteroidaceae*, *Peptococcaceae*, Anaerobic curved rods, *Eubacterium*, *Spirochaetes*등의 혐기성세균과 *Lactobacillus*가 최우세균총을 형성하고, *Bifidobacterium*, *Megasphaera*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*는 낮게 분포하고 있는 것으로 알려지고 있다.^{5,10,25,29,30} 그러나 본 실험의 결과에서는 *Bifidobacterium*이 전혀 검출되지 않았으며, 반대로 *Enterobacteriaceae*는 비교적 높게 분포하였는데, 이 유아돈의 설사증(postweaning diarrhea)과 깊은 관계가 있음을 시사하였다.

닭에서는 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Clostridium*등이 최우세균총으로 출현하며, *Lactobacillus*가 10^9 /g of feces, *Streptococcus* 및 *Enterobacteriaceae*가 10^7 - 10^8 //g of feces 정도로 검출되는 것으로 보고 되고 있다.^{9,25,25,31} 본 연구에서도 *Bacteroidaceae*가 최우세균총을 구성하였으며, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Megasphaera*가 높은 균수로 분포하여 위의 결과들과 일치하였는데, 특히 소 및 돼지에서는와는 달리 유해세균인 *Clostridium*속 세균이 8.23 ± 0.75 로 높게 분포하고 있는 것이 특징이었다. 유산균군 중에서는 호기성의 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*가 높게 분포하고 있었으며, 편성 혐기성의 *Bifidobacterium*은 2마리에서만 분포하고 있었다. 따라서 산란계의 유산균으로는 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*가 중요한 역할을 담당하는 것으로 추측되었다.

가축의 장내세균총의 분포는 연령, 품종, 사료 성분, 항생물질과 같은 첨가제, 사육환경 등에 따라 많은 영향을 받고 있는 것으로 알려지고 있으므로, 본 실험에서 검색한 한국 가축의 장내세균총에 대한 연구도 더욱 많은 환경 조건의 가축을 대상으로 검색할 필요가 있다. 아울러 이와 같은 학문적 기초조사를 바탕으로 앞으로는 분리된 *Bifidobacterium*을 이용한 가축용 생균제 개발에 따른 응용 연구가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

한국의 가축중에서 소, 돼지, 닭, 개를 대상으로, 장관내에 분포하고 있는 장내 세균총을 분리, 검색하고, 혐기성 유산균인 *Bifidobacterium*의 세균학적 동정과 특성조사를 실시하였다.

젖소 및 한우의 정상 장내세균총을 구성하는 최우세균총은 *Bacteroidaceae*, *Streptococcus*가 최우세균총을 구성하였으며, 다음으로 *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Lactobacillus*가 높게 분포하였다. *Bifidobacterium*의 군수는 log 10으로 환산하여 8.65 ± 0.21 의 높은 군수를 나타내었지만, 젖소에서는 검출되지 않고 한우 2마리에서만 검출되었다. 한우에서 분리된 *Bifidobacterium*은 *B. thermophilum*으로 동정되었다.

이유자돈의 혐기성 세균에서는 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae*의 순서로, 호기성 세균에서는 *Enterobacteriaceae*가 비교적 높게 분리되었으며, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Yeast*는 낮은 검출율과 군수를 나타내었다. 유산균중에서는 *Bifidobacterium*이 전혀 검출되지 않았으며, 대신 *Streptococcus*와 *Lactobacillus*가 높게 분포하고 있었다.

산란계의 검색 결과, *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Megasphaera*가 우세균총을 구성하였다. 유산균군 중에서는 호기성의 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*가 높게 분포하고 있었으며, 편성 혐기성의 *Bifidobacterium*은 2마리에서만 7.60 ± 0.71 로 분포하고 있었다. 산란계에서는 *B. pullorum*과 *B. animalis*가 분리되었다.

개의 혐기성 세균에서는 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Clostridium*이 높은 군수를 나타내었으며, 호기성 세균에서는 *Enterobacteriaceae*와 *Staphylococcus*가 가장 높게 분포하였다. 유산균중에서는 *Streptococcus*가 모두에서 9.24 ± 0.32 로 우세균총을 유지하였으며, *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*은 5마리중 4마리에서 각각 8.78 ± 1.14 , 8.15 ± 2.04 의 군수로 분리되었다. 개에서는 *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. pseudolongum*이 분리되었으며, 개의 총균수는 10.26 ± 0.30 으로 검색한 가축중에서 가장 높게 나타났다.

참 고 문 헌

1. Barnes EM, Mead GC. Anaerobic bacteria in habitats other than man, Blackwell Scientific Publication. 1986;303-331.

2. Boucourt R, Ly J. Microflora and fermentation in the gastrointestinal tract of the young pig. 2. Bacterial population. *Cuban J Agric* 1975;9:163
3. Buenrostro JL, Kratzer FH. Effects of *Lactobacillus* inoculation and antibiotic feeding of chickens on availability of dietary biotin. *Poultry Sci* 1983;62:2022-2029.
4. Champan JD. Probiotics, acidifiers and yeast cultures: a place for natural additives in pig and poultry production. in *Biotechnology in the Feed Industry*, Proc. Alltech's 4th Ann. Symp. 1988;219-233.
5. Cranwell PD. Microbial fermentation in the alimentary tract of the pig. *Nutr Abstr Rev* 1968;38:721-730.
6. Dawson KA, Newman KE, Boling JA. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *J Anim Sci* 1990;68:3392-3398.
7. Dehority BA, Orpin CG. Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations, in *The Rumen Microbial Ecosystem* 1988;151-183.
8. Ellinger DK, Muller LD, Glantz PJ. Influence of feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on faecal flora and selected blood parameters of young dairy calves. *J Dairy Sci* 1978;61:126.
9. Fethiere R, Miles RD. Intestinal tract weight of chicks fed an antibiotic and probiotic. *Nutr Rept Int* 1987;36:1305-1309.
10. Fewins BG, Newland LGM and Briggs CAE. The normal intestinal flora of the pig. III. Qualitative studies of lactobacilli and streptococci. *J Appl Bacteriol* 1957;20:234-242.
11. Fox SM. Probiotics; intestinal inoculants for production animals. *Vet Med* 1988;806-830.
12. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1999;66:365-378.
13. Holdeman LV, Cato EP, Moore WEC. Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg. 1977
14. Jernigan MA, Miles RD, Arafa AS. Probiotics in poultry nutrition -a review. *Worlds Poultry Sci J* 1985;41:99-107.
15. Jonsson E, Olsson I. The effect on performance, health and faecal microflora of feeding *Lactobacillus* strains to neonatal calves. *Swed J Agrid Res* 1985;

- 15:71-76.
16. Kaneuchi C, Watanabe K, Terada A, et al. Taxonomic study of *Bacteroides clostridiiformis* subsp. *clostridiiformis*(Burri and Ankersmit) Holdeman and Moore and of related organisms; proposal of *Clostridium clostridiiformis*(Burri and Ankersmit) comb. nov. and *Clostridium symbiosum*(Stevens) comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1976;26:195-204.
 17. Kenworthy R. Intestinal microflora of the pig. *Adv Appl Microbiol* 1973;16:31-54.
 18. Kimura N, Yoshikane M, Kabayashi A, et al. An application of dried bifidobacteria preparation to scouring animals. *Bifidobacteria Microflora* 1983;2:41-55.
 19. Lee WK, Isolation and identification of clostridia from the intestine of laboratory animals. *Lab Anim* 1991;25:9-15.
 20. Lee WK, *Clostridium gallinarum* sp. nov., Intestinal Microflora Isolated from the feces of chicken. *Kor J Lab Ani Sci* 1991;7:35-40.
 21. Lee WK, Fujisawa T, Kawamura S, et al. *Clostridium intestinalis* sp. nov., an aerotolerant species isolated from the feces of cattle and pigs. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39:334-336.
 22. Lindgren S, Dobrogosz WJ. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *EFMS Microbiol Rev* 1990;87:149-164.
 23. Miles RD, Arafa AS, Harms RH. Effects of a living non-freeze dried *Lactobacillus acidophilus* culture on performance, egg quality and gut microflora in commercial layers. *Poultry Sci* 1981;60:993-1004.
 24. Mitsuoka T. The World of Anaerobic Bacteria; A Color Atlas of Anaerobic Bacteria, 1 st ed., Sobun Press, Tokyo 1980
 25. Mitsuoka T, Kaneuchi C. Ecology of the bifidobacteria. *Am J Clin Nut* 1977;30:1799-1810.
 26. Mitsuoka T, Morishita Y, Terada A, et al. A simple method("plate-in-bottle method") for the cultivation of fastidious anaerobes. *Jap J Microbiol* 1969;13:383-385.
 27. Parker CA. Anaerobiosis with iron wool. *Aust J Exp Biol Sci* 1955;33:33-38.
 28. Princewall TJT, Agba MI, Examination of bovine feces for the isolation and identification of *Clostridium* species. *J Appl Bacteriol* 1982;52:97-102.
 29. Robinson IM, Allison MJ, Bucklin JA. Characterization of the cecal bacteria of normal pigs. *Appl Environ Microbiol* 1981;41:950-955.
 30. Robinson IM, Whipp SC, Bucklin JA, et al. Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysenteric pigs. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:964-969.
 31. Soerjadi AS, Lloyd AB, Cumming RB. *Streptococcus faecalis*, a bacterial isolate which protects young chickens from enteric invasion by salmonellae. *Austral Vet J* 1978;54:549-550.
 32. Wolter R, Henry N, Jacquot L. Probiotics in animal nutrition. Experimental study of their efficiency in rats and beef calves. *Rec Med Vet* 1987;163:1131-1138.
 33. Ziolecki A, Briggs CAE. The microflora of the rumen of the young calf. II Source, nature and development. *J Appl Bacteriol* 1961;24:148-163.
-