

## 박테리오신 OR-7을 생산하는 향균 효모의 양계에서의 사양시험 효과

조동인<sup>1\*</sup> · 강상모<sup>1,2</sup> · 이재화<sup>3</sup> · 이상현<sup>3</sup> · 김남영<sup>3</sup> · 김기석<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>건국대학교 생물공학과, <sup>2</sup>건국대학교 미생물공학과, <sup>3</sup>신라대학교 생명공학과  
<sup>4</sup>경북대학교 수의학과

**Efficacy of Antibacteriocidal Yeast That Producing Bacteriocin OR-7 in Chicken. Cho, Dong-In<sup>1\*</sup>, Sang-Mo Kang<sup>1,2</sup>, Jae-Hwa Lee<sup>3</sup>, Sang-Hyeon Lee<sup>3</sup>, Nam-Young Kim<sup>3</sup>, and Ki-seuk Kim<sup>4</sup>.** <sup>1</sup>Department of Biological Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea, <sup>2</sup>Department of Micrological Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea, <sup>3</sup>Department of Bioscience and Biotechnology, Silla University, Busan 617-736, Korea, <sup>4</sup>Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – This study was conducted to investigate the effects of feeding probiotics(gene modified yeast) on the egg quality in laying hens. The laboratory method of this study is as follow: In hens, 300, 36 weeks old ISA brown commercial layer, were employed in 13weeks feeding trial with a 7 days adjustment period. Dietary treatments are 1) control (basal diet) 2) Y0.3 (basal diet+0.3% probiotics), 3) Y0.5% (basal diet+0.5% probiotics), 4) PY0.3% (basal diet+0.3% plasmid modified probiotics), 5) PY0.5% (basal diet+0.5% plasmid modified probiotics). For overall period, hen-day egg production, egg weight ( $p<0.05$ ) by dietary probiotic supplementation were recorded. Eggs were collected and weighed every day. Egg production number and egg production rate, egg weight, failure egg ratio and trouble egg ratio were recorded for 13weeks days. Diets PY0.3 and PY0.5 improved Egg production rate, egg production number and egg weight, compared to control diet (linear effect.  $p<0.05$ ). And, diets PY0.3 and PY0.5 improved Egg production rate, egg production number, compared to Y0.3 and Y0.5 (linear effect.  $p<0.05$ ). But, in Inferior egg and cracked egg, diets PY0.3 and PY0.5 did not tended to increase by dietary probiotic supplementation compared to control diet and Y group (0.3, 0.5) (linear effect.  $p<0.05$ ). The productivity enhance on the egg quality in laying hens is considered from the effects of feeding probiotics(gene modified yeast).

**Key words:** yeast, feed efficiency, dietary probiotics, layer, egg production ratio, chicken productivity test

### 서 론

최근 식품에 대한 안전성 문제가 증대되면서 각종 항생제 및 환경오염물질에 대한 규제가 강화되고 있다. Dubos[17]는 포도상구균이 사람에서 처음으로 병원균으로 알려졌고 페니실린이 발견되는데 기여했지만 대부분의 포도상 구균감염에서는 페니실린에 내성을 가지고 있다고 하였다. 1928년 처음 페니실린이 발견된 이래 항생제는 동물과 인류의 감염 치료를 위한 의약품으로 지대한 공헌을 하였고 식품의 부패나 변질의 원인이 되는 미생물의 증식을 억제하여 식품 산업의 발전에도 크게 기여하였다. 뿐만 아니라 축산분야에서도 가축의 생산성 향상과 질병 치료에도 널리 이용되고 있다. 하지만 항생제를 지속적으로 섭취할 경우 이들이 체내에 축적되면서 돌연변이나 기형을 유발하는 안전성 문제, 항생제 내성균의 증가 등 항생제 사용에 따른 부작용이 사회

적 이슈로 대두되면서 전 세계적으로 항생제에 대한 사용 규제가 일반화되고 있는 추세이다[26]. 최근에는 EU, 미국 등 선진국에서는 항생물질 사용을 규제 및 관리를 강화하고 있으며, 유럽에서는 2000년에 사료에 첨가하는 성장 촉진용 항생제 사용을 금지시켰다. 정부가 파견하는 수의사 제도를 신설, 농장마다 담당 수의사를 지정해 가축을 관리하고 있으며, 수의사 처방이 있어야만 항생제를 사용할 수 있도록 했다[2]. 우리나라도 사료 내(공장에서) 혼합가능 동물 의약품(항생물질) 종류는 현재는 18종으로 계속 줄어왔으며 올해(2010년)에 고시를 개정해서 2011년부터는 전면적으로 사료 내 항생물질 혼합을 금지하려고 계획 중이라고 한다. 그로 인해 항생제를 대체할 수 있는 친환경적인 대체제로서 probiotic 이나 효모제, 허브나 식물 추출물 등 여러 방면에서 연구가 진행되어 왔다[6, 21, 25, 29, 32, 36]. 본 연구도 친환경적인 항생제 대체제를 개발하기 위해서 이 연구를 하게 되었다.

효모제는 닭에 대한 아미노산의 소화율이 98%로 높은 편이다. 노선호 등[2]은 효모제의 첨가는 육계의 후기에 증체량과 사료효율을 개선시킨다고 하였고, 박대영 등[4]은 효모

\*Corresponding author

Tel: 82-2-450-3524, Fax: 82-2-3437-8360

E-mail: cdijdi@hanmail.net

배양물의 첨가가 증체량(약 4~5%)과 사료 효율을 개선시키며 폐사율이 감소하는 경향이 있다고 보고하였다. 또한 효모 배양물은 산란계의 생산성을 개선하는 사료 첨가제로서 보고되어 왔다. 박대영 등[4]은 산란계 사료에 효모 배양물의 급여로 산란율이 개선되었다고 하였으며, 이을연 등[10]은 효모배양물의 급여로 산란율과 난중 및 1일 산란량이 현저하게 증가하였다고 하였다. 또한 효모의 급여는 장내 미생물의 균형 유지와 대장균의 수를 저하시키며, 섭취한 영양소의 소화를 증대시켜 생산성을 개선한다고 하였다[33]. 장애무 등[12]은 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)의 급여가 증체량과 사료 효율을 개선시킨다고 하였다. Shin [33]은 효모가 장내 유산균의 성장을 촉진시켜 유해 세균의 수를 감소시켜서 장내 환경을 개선하며 영양소 소화흡수를 증진시킨다고 하였으며, Line *et al.*[22]도 사료 내 10% 건조 효모의 첨가가 이동 스트레스에 의해 증가하는 맹장 내의 *Salmonella*와 *Campylobacter*의 균수를 줄여준다고 보고하였다.

효모는 가축에 대한 가장 많이 이용되고 있는 생균제인데, 장내 미생물의 균형 유지와 유해 미생물의 성장을 억제함으로써 영양소의 소화 향상 등 가축의 생산성을 개선할 수 있다. 효모배양물은 아미노산, 비타민 및 광물질 조성이 우수하고 각종 소화효소를 분비하여 발효를 촉진시키는 물론 성장에 필요한 영양소를 공급함으로써 조섬유 소화율을 향상시키며, 장내 미생물을 안정시켜서 대사성 질병을 예방하는 효과가 있다[24].

효모는 소장 내에서 산소를 이용하기 때문에 산소를 필요로 하는 장내 유해 미생물의 증식을 억제하고 장내 혐기성 유산균의 증식을 촉진시키므로 가축의 생산성을 향상시킬 수 있다[32, 34]. 효모는 또한 인과 광물질의 이용성을 향상시킨다고 알려져 있다. Thayer *et al.*[37]과 Day *et al.*[16] 역시 저인사료에 효모 배양물을 투여했을 때 난각질이 개선되었다고 하였으며, Chapple[13]은 돼지와 가금 사료에 효모배양물의 첨가로 광물질의 이용성이 증가한다고 하였다. 현재까지 국내에서 개발된 항생제 대체제로는 캡슐화된 *Lactobacillus fermentum*[20] 및 효모 그리고 세균으로 구성된 복합 생균제[19] 등이 있으며, 이들은 장내에서 유해 세균의 정착을 억제하고 장내 균총을 안정화하는 데 목적을 두고 있다.

Probiotics란 항생물질에 상대되는 개념으로 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주인 사람, 동물에 대하여 유익하게 작용하는 균주를 말한다. 이러한 연구의 한 가지로서, 부패하기 쉬운 식품의 보존성을 향상시킬 수 있는 보존료 대체물질 혹은 가축 사료에서 병원균의 생육을 저해하기 위한 항생제 대체물질로 사용가능한 박테리옌(OR-7)을 산업적으로 대량생산할 수 있는 효모세포를 제작하였다[9]. OR-7의 제작방법은 다음과 같다. 박테리옌의 일종인 OR-7을 생산하는 효모는 180 bp 길이의 개시코돈과 종지코돈을 포함하는 OR-7의 유전자를 합성하여 효모 발현 vector

pAUR123에 클로닝하여 재조합 DNA를 작성하였다. 재조합 DNA로 형질전환된 효모가 박테리옌 OR-7 생산유전자를 가지고 있음을 효모로부터 분리된 플라스미드를 이용한 PCR로 확인하였고, OR-7의 생산은 SDS-PAGE로 확인하였다. 형질전환된 효모는 가축 사료에서 병원균의 생육을 저해하기 위한 항생제 대체물질로 사용할 수 있는 박테리옌을 산업적으로 생산할 수 있는 효모세포로 그람양성 대표세균인 고초균(*B. subtilis*)과 그람음성 장내세균인 대장균(*E. coli*)에 대해 항균활성을 나타냈다. 또한, 농흉이나 중이염의 원인이 되는 녹농균(*P. aeruginosa*)과 식중독균(*C. jejuni*)에 대해서도 항균활성을 나타냈다.

OR-7은 *Lactobacillus salivarius*균주가 생산하는 항균활성 펩타이드로 그람음성세균인 *Campylobacter jejuni*에 대해 항균활성을 나타낸다[35].

*C. jejuni*는 소, 면양 등의 포유동물과 닭에서 장염을 일으키는 병원균의 일종이다. 이 균의 보균자는 닭, 거위 등의 가금류이며, 이들과의 접촉 혹은 오염된 음식물의 섭취에 의해 감염이 일어난다[18]. 최근, 대형화된 양계사육의 규모로 인해 이 세균의 감염증이 증가하고 있다[38].

본 논문에서는 양계에서 질병억제 능력과 산란수, 산란율, 사료 요구율, 난중, 등외란 비율, 파란율 등에 미치는 영향을 비교하는 사양시험을 통하여 천연항생제가 포함된 기능성 가축사료를 개발하기 위해서, 전보[9]에서 제작된 박테리옌의 일종인 OR-7의 유전자를 도입해서 cloning된 플라스미드를 갖는 효모(PY)를 대량생산하여 항균활성효모를 첨가한 사료를 제조하여 닭에 급여하였다. 즉, OR-7 유전자 도입에 의해 형질전환된 효모의 probiotics로서의 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 박테리옌 OR-7을 생산하는 효모의 배양

기존 연구에서 개발된 박테리옌 OR-7을 생산하는 재조합 효모[9]를 YPD(glucose 20 g/L, peptone 20 g/L, yeast extract 10 g/L) 배지 100 mL에 aureobacidin A(Takara Korea, Seoul, Korea) 최종농도가 0.2 µg/mL이 되게 첨가한 후 30°C에서 48시간 전배양을 행하고 pilot scale fermenter(Biotron, Korea)를 이용하여 30°C에서 2일간 배양한 후, 원심분리(15,000 rpm, 10분)하여 균체를 회수하여 건조분말을 행하였다.

### 실험동물 및 사양시험 설계

경북, 안동시 소재의 양계장에서 36주령 ISA brown 산란계를 공시하였다. 시험에 사용된 각 처리구는 다음과 같다. 처리구로는 대조군으로 옥수수-대두박 기초 사료구(Con; basal diet)로 했으며, 시험군은 일반 효모 0.3% 첨가한 사료(basal diet+0.3% 일반효모), 일반 효모 0.5% 첨가한 사료

(basal diet+0.5% 일반효모), 활성 효모 0.3% 첨가한 사료 (basal diet+0.3% 유전자 변형 효모), 활성 효모 0.5% 첨가한 사료(basal diet+0.5% 유전자 변형 효모)로 구성하였다. 13주간의 사양시험 기간 동안, 각각의 처리구에서의 산란율, 산란수, 난중, 등외란 비율, 파란율 등을 조사했다. 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수 씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다.

#### 시험 사료 및 사양관리

시험사료는 NRC[27]에 근거하여 단백질과 에너지 함량을 동일하게 배합해서 공급했다. 사료 조성은 다음과 같이, 각 성분의 비율(%)은 corn 61.65, soybean meal 27.88, corn gluten meal 4.00, soybean oil 3.06, limestone 1.22, tricalcium phosphate 1.31, salt 0.25, DL-methionine 0.07, lysine-HCL 0.05, vitamin-mineral mixture 0.50이었으며, 대사에너지와 단백질 부분은 (calculated value) ME, 3,100 kcal/kg,

**Table 1. Ingredients and chemical composition of basal diet growing chicken.**

Item	Contents
corn (%)	61.65
soybean meal (%)	27.88
corn gluten meal (%)	4.00
soybean oil (%)	3.06
limestone (%)	1.22
tricalcium phosphate (%)	1.31
salt (%)	0.25
DL-methionine (%)	0.07
lysine -HCL (%)	0.05
vitamin-mineral mixture <sup>1)</sup> (%)	0.50
digestible energy (kcal/kg)	3,100
crude protein (%)	20.0
methionine (%)	0.38
lysine (%)	1.00
Ca (%)	0.90
available P (%)	0.35

<sup>1)</sup>vitamin-mineral mixture provided the following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 1,500 IU; vitamin E, 20.0 IU; vitamin K3, 0.70 mg; vitamin B12, 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

crude protein 20.0(%), methionine 0.38(%), lysine 1.00 (%), Ca 0.90(%), available P 0.35(%)로서 시험에 사용했다 (Table 1).

## 결 과

#### 총산란율

13주간의 사양시험 기간 동안 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수 씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 항균활성효모를 첨가하여 제조한 기능성사료를 급여한 시험군 중 유전자재조합 효모 0.5% 첨가군(PY 0.5% group)이 84.5±2, 유전자재조합 효모 0.3% 첨가군(PY 0.3% group)이 83.4±3으로 일반효모 0.3% 첨가군(Y 0.3% group)의 81.2±1, 일반효모 0.5% 첨가군(Y 0.5% group)의 82.0±2보다 높았으며, 대조군(Control) 79.0±1보다도 높았다(Table 2). 즉, 활성 효모 첨가군이 일반효모 및 대조군에 비해서 모두 유의성 있게 증가하였다( $p<0.05$ ). 각 군에서 그래프의 식 계산방식은 excel program을 이용해서 구하였다. 각 군의 산란율의 그래프 값을 구하여 보면 대조군은  $y=-0.009x+0.853$ , 일반효모 0.3% 첨가군은  $y=-0.01x+0.883$ , 일반효모 0.5% 첨가군은  $y=-0.011x+0.898$ , 활성효모 0.3% 첨가군은  $y=-0.010x+0.904$ , 활성효모 0.5%첨가군은  $y=-0.012x+0.930$ 의 식으로 나타났다(Fig. 1). 이 식들에서 보면 대조군이 가장 완만한 기울기를 가져 산란율이 비교적 일정하나 상수 값이 가장 낮아 기본적으로 산란율이 낮은 것을 알 수 있다. 반면에 상수값이 활성효모 0.3% 첨가군은 5.97%, 활성효모 0.5% 첨가군은 9.02%가 대조군에 비해서 더 높아 Fig. 1에 서와 같이 산란율이 높은 것을 알 수 있다.

#### 총산란수

13주간의 사양시험 기간 동안 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 산란수에 있어서는 활성 효모 0.3% 첨가군(PY 0.3% group)과 활성 효모 0.5% 첨가군(PY 0.5% group)이 일반효모 0.3% 첨가군(Y 0.3% group)와 0.5% 첨가군(Y 0.5% group)보다 더 우수했으며 대조군(Control)에 비해서도 더 증가했다(Table 3). 그러나 활성효모 상호간과 일반 효모 상호간에는 유의성이 없었다. 각 군에서 그래프의 식 계산방식은 excel program을 이용해서 구하였다. 각 군의 산란수의

**Table 2. Effects of dietary for probiotics on weekly average egg production.**

(unit: %)

Item	Control	Y0.3%	Y0.5%	PY0.3%	PY0.5%
Average	79.0±1	81.2±1	82.0±2	83.4±3*	84.5±2*

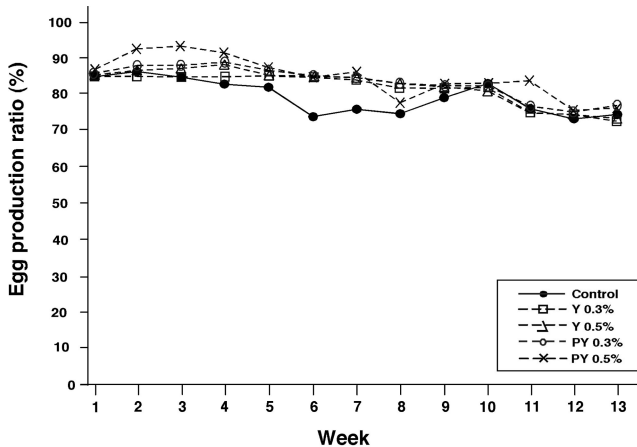
Five of treatment was used for the determination of weekly average egg production ratio. Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as average for thirteen samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p<0.05$  compared with no treated samples.

**Table 3. Effects of dietary for probiotics on weekly average egg production.**

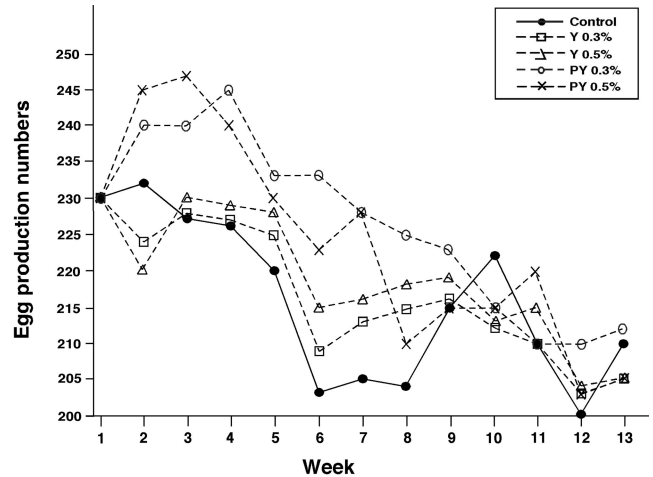
(unit: numbers)

Item	Control	Y0.3%	Y0.5%	PY0.3%	PY0.5%
Average	215.00±11.776	216.69±9.132	219.08±8.995	226.17±11.928*	223.77±14.635*

Five of treatment was used for the determination of weekly average egg production numbers. Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as average for thirteen samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with no treated samples.



**Fig. 1. Effects of dietary probiotics on weekly egg production ratio (%).** Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as mean for three samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with control samples.



**Fig. 2. Effects of dietary probiotics on weekly egg production numbers.** Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as mean for three samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with control samples.

그래프 값을 구하여 보면 대조군은  $y = -1.859x + 228.9$ , 일반효모 0.3% 첨가군은  $y = -1.688x + 229.3$ , 일반효모 0.5% 첨가군은  $y = -1.683x + 231.7$ , 활성효모 0.3% 첨가군은  $y = -2.188x + 242.8$ , 활성효모 0.5%첨가군은  $y = -2.628x + 243.4$ 의 식으로 나타났다(Fig. 2). 이 식들에서 보면 활성 효모 0.5% 첨가군이 가장 급경사의 기울기를 가져 산란율이 급하게 떨어졌으나 큰 달걀을 생산하는 비율이 높아서 상대적으로 산란수가 줄어든 것으로 보인다. 그러나 상수 값이 활성효모 0.3% 첨가군은 6.1%, 활성효모 0.5% 첨가군은 6.3%가 대조군에 비해서 더 높았으며, 활성효모 0.5%첨가군은 일반효모 0.5% 첨가군 보다 상수 값이 5.04%높았으며, 활성효모 0.3%첨가군은 일반효모 0.3%첨가군 보다 상수 값이 5.9% 높게 나타나 Fig. 2에서와 같이 활성효모 첨가군이 대조군이나 일반

효모 첨가군 보다 산란율이 높은 것을 알 수 있다.

**난중에 대한 효과**

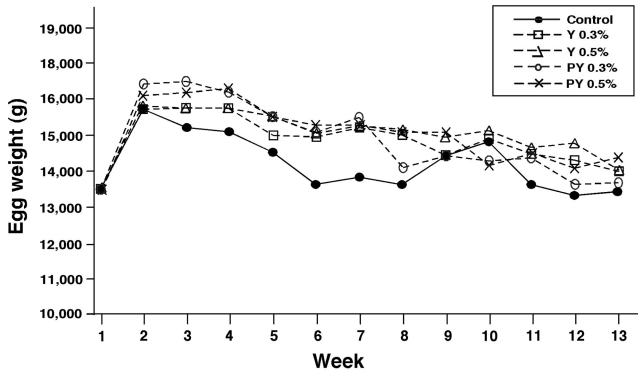
13주간의 사양시험 기간 동안 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 난중에 있어서는 효모 첨가군이 대조군에 비해서 증가했으며 활성효모와 일반효모 상호간의 차이에서는 유의성이 없었다(Table 4). 대조군, 활성효모 0.3% 첨가군(PY 0.3% group), 활성효모 0.5% 첨가군,(PY 0.5% group) 일반효모 0.3% 첨가군(Y 0.3% group), 일반효모 0.5% 첨가군(Y 0.5% group)의 그래프를 식으로 구하여보았다. 각 군에서 그래프의 식 계산방식은 excel program을 이용해서 구하였다.

**Table 4. Effects of dietary for probiotics on egg weight in laying hens.**

(unit: g)

Item	Control	Y0.3%	Y0.5%	PY0.3%	PY0.5%
Average	14192.3±802.56	14834.6±679.81*	14983.1±670.46*	14861.5±1073.58*	14958.3±869.50*

Five of treatment was used for the determination of weekly average egg weight. Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as average for thirteen samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with no treated samples.

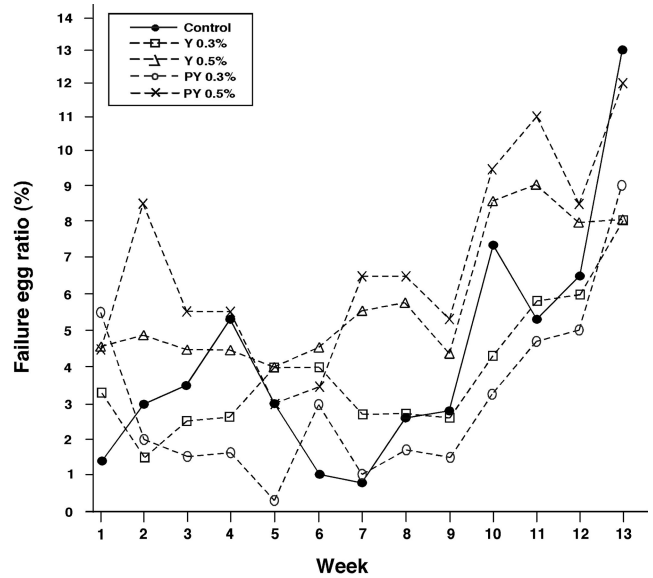


**Fig. 3. Egg weight (g) in laying hens.** Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as mean for three samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with control samples.

각 군의 산란수의 그래프 값을 구하여 보면 대조군은  $y = 88.35x + 14855$ , 일반효모 0.3% 첨가군은  $y = -54.72x + 15245$ , 일반효모 0.5% 첨가군은  $y = -42.37x + 15301$ , 활성효모 0.3% 첨가군은  $y = -132.3x + 15854$ , 활성효모 0.5% 첨가군은  $y = 84.70x + 15675$ 의 식으로 나타났다(Fig. 3). 이 식들에서 보면 활성 효모 0.3% 첨가군이 가장 급경사의 기울기를 가져 산란율이 급히 떨어졌으나 난중은 상수 값으로 봐서 난중이 가장 큰 것을 알 수 있으며, 활성효모 첨가군이 일반효모 첨가군 보다는 상수값이 모두 높아서 더 난중이 더 높은 것을 알 수 있다. 난중이 효모첨가군(활성효모 및 일반효모)이 대조군에 비해서 높은 것은 사료 이용률 향상에 따른 것으로 추측된다.

**등외란의 비율**

13주간의 사양시험 기간 동안 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수 씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 등외란의 비율에서는 효모 첨가군과 대조군의 차이, 활성효모와 일반효모와의 차이 모두 유의성이 없었다. 효모 첨가군에서는 무게가 큰 계란이 생산되었고 산란수가 증가하다보니 등외란 발생률도 상대적으로 올라가는 경향이 있는 반면, 대조군에서는 그 자체로 등외란 발생이 더 높아 일정한 비율이 나오지는 않은 것으로 보인다. 대조군, 활성효모 0.3% 첨가군(PY 0.3% group), 활성효모 0.5% 첨가군(PY 0.5% group), 일반효모 0.3% 첨가군(Y 0.3% group), 일반효모 0.5% 첨가군(Y 0.5% group)의 그래프의 식을 구하여 보았다. 각 군에서 그래프의 식 계산방식은 excel program을 이용해서 구하였다. 각 군의 산란수의 그래프 값을 구하여 보면 대조군은  $y = 0.005x + 0.003$ , 일반효모 0.3% 첨가군은  $y = 0.003x + 0.013$ , 일반효모 0.5% 첨가군은  $y = 0.003x + 0.031$ , 활성효모 0.3% 첨가군은  $y = 0.003x + 0.009$ , 활성효모 0.5% 첨가군은  $y = 0.004x + 0.035$ 의 식으로 나타났다(Fig. 4). 이 식들

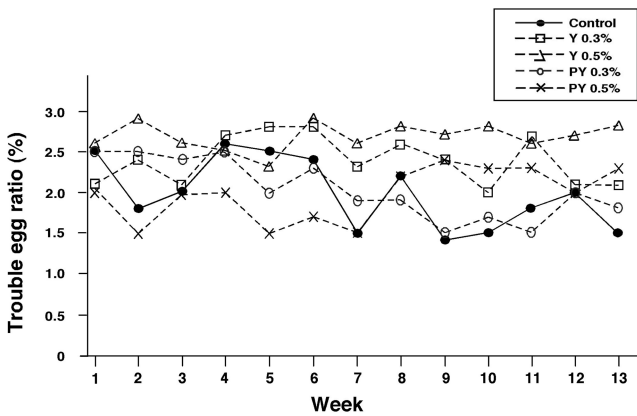


**Fig. 4. Effects of dietary of probiotics on failure egg ratio in laying hens (%).** Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as mean for three samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with control samples.

에서 보면 대조군이 기울기가 가장 커서 증가하는 경향이 가장 크며 효모 첨가군에서도 큰 값을 보이고 있으나 유의성은 없었다. 그래프에서 이들 기울기를 보면 일반 효모첨가군과 활성효모 첨가군이 비슷하나 상수값을 보면 차이가 나며, 이것은 효모이용도의 차이로 보이며, 효모를 첨가한 군은 난중이 큰 달걀을 생산하는 비율이 높고 또한 대조군은 그 자체로 등외란 생산 비율이 높아서 등외란 생산비율은 서로 상이해서 그 비율을 구하는 것에 일관성이 부족한 결과가 나왔다고 판단된다.

**파란 발생 비율**

13주간의 사양시험 기간 동안 사양시험에 이용한 닭의 처리구는 각각 20수 씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 산란에서 파란 발생 비율에서는 효모 첨가군과 대조군의 차이, 활성효모와 일반효모와의 차이 모두 유의성이 없었다. 효모 첨가군에서는 무게가 큰 계란이 생산되어서 파란 발생률이 상대적으로 올라가는 경향이 있는 반면, 대조군에서는 그 자체로 파란 발생이 더 높아 일정한 비율이 나오지는 않은 것으로 보인다. 대조군, 활성효모 0.3% 첨가군(PY 0.3% group), 활성효모 0.5% 첨가군(PY 0.5% group), 일반효모 0.3% 첨가군(Y 0.3% group), 일반효모 0.5% 첨가군(Y 0.5% group)의 그래프의 식을 구하여보았다. 각 군에서 그래프의 식 계산방식은 excel program을 이용해서 구하였다. 각 군의 산란수의 그래프 값을 구하여 보면 대조군은  $y =$



**Fig. 5. Effects of dietary of probiotics on trouble egg ratio in laying hens (%).** Y 0.3%: basal diet+0.3% probiotics, Y 0.5%: basal diet+0.5% probiotics, PY 0.3%: basal diet+0.3% plasmid modified probiotics, PY 0.5%: basal diet+0.5% plasmid modified probiotics. Results are represented as mean for three samples. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post hoc test \* $p < 0.05$  compared with control samples.

-0.000x+0.024, 일반효모 0.3% 첨가군은  $y = -0.000x + 0.024$ , 일반효모 0.5% 첨가군은  $y = 7E-05x + 0.026$ , 활성효모 0.3% 첨가군은  $y = -0.000x + 0.025$ , 활성효모 0.5% 첨가군은  $y = 0.000x + 0.016$ 의 식으로 나타났다(Fig. 5). 이 식들에서 상수 값을 보면 대조군, 효모 첨가 군에서 파란 율 경향은 비슷하며 별 차이가 없었다. 효모를 첨가한 군은 효모를 이용해서 생산성이 증대하므로, 상대적으로 대조군에 비해서 큰 달걀을 생산하는 비율이 높다보니 파란 발생비율이 높아졌다고 판단되며 활성효모 첨가군과 일반효모 첨가군 사이에서는 별 차이가 없었으며 유의성도 없었다.

## 고 찰

양계에서 유전자변형 효모를 첨가한 사료에서 사양효과를 측정하기 위해서 시험을 수행했다. 유전자변형생물체(LMO: Living Modified Organisms)는 생명공학기술을 이용하여 새롭게 조합된 유전물질을 포함하고 있는 동물, 식물, 미생물을 말하는 것으로서 미생물, 제조제내성 콩, 해충저항성 옥수수·면화, 형광물고기 등이 있다. 기존의 농산물품질관리법에 사용하는 유전자변형농산물(GMO)과 동일한 의미로 볼 수 있으나, LMO는 살아있다는 것을 강조한 것으로 GMO는 LMO가 생명력을 잃고 냉장, 냉동, 가공된 식품(ex. 두부, 두유)까지 포함하며, 기존의 농산물품질관리법에 의한 GMO 표시제도는 식용만을 대상으로 하였으나, LMO 관리는 사료용, 산업용, 환경정화용 등을 모두 포함한다(단 의약품, 복제 동물 등은 제외). 유전자변형을 유전자재조합, 유전자조환, 유전자조작, 유전자변환 등 관련 법률 및 국가에 따라 다양하게 표현하고 있다. 품종 개량, 비료 살포, 농약 사용 등에 의한 현대농업으로는 인구 증가 및 식생활 변화로 인한 향

후 식량 부족 상황에 없음을 따라, 생명공학기법으로 새로이 개발한 유전자변형생물체(living modified organisms; LMO)이 등장하여 현실화되고 있으며, 그 결과, LMO는 인류 식량 자원의 해결과 의·약학의 신기원을 이룩할 수 있을 것이라고 기대되었다.

LMO의 개발은 주로 농업 분야에서 작물의 품질과 작물경작의 용이성의 향상 및 병충해에 대한 내성 증진에 초점을 맞추고 있다. LMO에 도입된 유전자는 유전자 그 자체와 생물체 내에서 발현된 단백질로 식량 또는 식품에 포함되므로, 이러한 단백질의 혼입에 따른 바이오안전성이 보장되어야 한다.

LMO의 안전성 논란이 높아지자, 국제기구, 선진국 정부 기관, 민간단체 등에서는 LMO와 관련된 정보들을 수집 분석하여 일반인에게 공개하고 있으며, 나아가 세계 각국들은 2000년 1월 바이오안전성에 관한 카르타헤나 의정서(The Cartagena Protocol on Biosafety)를 채택하고, 이에 따라 LMO의 국가간 이동에 관련된 법률을 제정하여 LMO를 관리하고 있다.

유전자 변형 미생물을 이용한 것으로 합성계면활성제의 독성과 환경오염 등의 문제점을 해결해 줄 뿐만 아니라 다양한 이용가능성을 가진 biosurfactant의 경제적인 실용가치를 높이기 위하여 생산량이 많은 균주를 선별하여 생산조건을 선정하여 연구도 있다[1]. 또한 박용준 등[7]은 *Bacillus subtilis*의  $\beta$ -1,4-glucanase 유전자에 *Saccharomyces cerevisiae*의 alcohol dehydrogenase I 유전자(ADHI) promoter를 연결시키고 원래의 분비신호서열 대신에 mouse salivary  $\alpha$ -amylase 유전자의 분비신호서열을 접합시켜서 산업용 알콜 생산 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*의 iso-1-cytochrome c 유전자(CYC1)의 전사종결신호를 부가한 후 그 효과를 비교 측정하였다.

본 연구 결과 OR-7을 생산하도록 유전자재조합을 한 효모 첨가군이 대조군 및 일반효모 첨가군에 비해 산란율, 산란수, 난중에서 우수한 효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 등위란과 파란율에서는 첨가군에서 큰란이 생산되는 비율이 크다 보니 상대적으로 등위란과 파란율이 높아진 것으로 보인다. 시험결과는 유전자 변형 효모 0.3%, 0.5% 첨가군이 대조군에 비해서 산란율, 산란수, 난중에서 모두 우수한 효과를 나타내었다(Fig. 1~3). 유전자 변형 효모 첨가군이 일반효모 첨가군보다 산란율, 산란수에서는 우수했으나 난중에서는 유의성이 없었다(Fig. 1~3). 난중이 증가를 못한 것은 산란수가 증가해서 난중이 상대적으로 그 만큼 증가를 못한 것으로 보인다. 유종석 등[6]의 연구 결과 또한 효모 첨가군이 대조군 보다 산란율이 증가했다고 발표하였는데 본 실험 결과 또한 유사하게 나타났다(Fig. 1). 또한 산란율 증가는 효모가 생산하는 B group 비타민과 chelated mineral, UGF, 아미노산 등이 영향을 준 것으로 사료된다고 했는데 본 실험 결과(Fig. 1)에서 산란율이 증가한 것도 마찬가지로 이유로 증가한 것으로 사료된다. 또한 사료이용율이 증가한 것이 산

란을 증가와 난중 증가와 관련이 있다고 발표했는데 본 실험결과와 유사하다고 사료된다(Fig. 1, Fig. 3).

등외란의 비율에서는 대조군과 효모 첨가군의 차이에서는 유의성이 없으며 활성효모와 일반효모와의 차이에서도 유의성이 나타나지 않았다. 효모 첨가군에서는 상당수가 무게가 큰 계란이 생산되어서 등외란 발생률이 상대적으로 올라간 경향이 있는 반면, 대조군에서는 그 자체로 등외란 발생이 더 높아 일정한 비율이 나오지는 않은 것으로 보인다. Fig. 5에서 보듯이 산란에서 파란 발생 비율에서는 효모 첨가군과 대조군의 차이에서는 유의성이 없었다. 활성효모와 일반효모와의 차이에서도 유의성이 없었다. 효모 첨가군에서는 상당수가 무게가 큰 계란이 생산되어서 파란 발생률이 상대적으로 올라가는 경향이 있는 반면, 대조군에서는 그 자체로 파란 발생이 더 높게 일정한 비율이 나오지는 않은 것으로 보인다. 본 연구 결과는 유종석 등[8]이 발표한 것과 유사하게 나타났다. 즉, 하절기에 시험을 실시했기 때문에 난각 형성을 위한 Ca 이용률이 떨어졌고 결과적으로 산란율 증가에 따른 Ca 요구량이 증가하므로 인하여 Ca이 한계적으로 부족하여 발생한 것으로 추측된다. Rose[31] 역시 *Saccharomyces cerevisiae*는 산소에 대한 친화성이 강하기 때문에 장내의 산소를 제거하여 혐기성 세균의 증식을 도우며, 이로 인해 혐기성 세균인 유산균이 증식한다고 하였다. 실제로 Reynaldo[30]는 효모배양물과 유산균의 혼합급여는 산란율을 향상시킨다고 보고하였으며, Michihiro and Nakano[26] 역시 비슷한 보고를 하였다. 또한 새로운 유산균을 투입하지 않더라도 기존에 닭의 체내에 보유하고 있는 유산균을 증식시킬 수가 있다고 생각된다. 이런 이유로 Fig. 1~3에서 보듯이 산란율, 산란 수, 난중의 증가는, 사료효율 개선과 병원성 미생물의 억제효과 등이 복합적으로 작용하여 상승작용효과로 작용했기 때문이라고 추정된다. 또한 효모 배양물은 산란계의 생산성을 개선하는 사료 첨가제로서 보고되어왔다. 박대영 등[4]은 산란계 사료에 효모 배양물의 급여로 산란율이 개선되었다고 하였으며, 이을연 등[10]은 효모배양물의 급여로 산란율과 난중 및 1일 산란량이 현저하게 증가하였다고 하였다. 본 시험에서도 Fig. 1, Fig. 2에서와 같이 산란율, 산란수가 증가하였는데, 상기의 연구보고와 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 활성효모를 첨가함으로써 면역 기능강화와 bacteriocin의 기능과 효모에서 분비된 여러 가지 유용물질의 상호작용에서 기인된 결과로 보여진다. 이런 유용물질은 광물질[13], 비타민[14], 아미노산[23] 등으로서 이들 연구결과에서도 조성이 우수한 것으로 보고되어져 있다. 이상에서 보듯이 다른 학자들의 논문과 이번 시험 성적들을 종합적으로 볼 때, 유전자 변형 효모를 첨가한 사료가 양계에서 일반효모 및 무첨가한 사료를 급여한 군보다도 더 우수한 경제성을 보인 것은 이 효모에서 분비한 bacteriocin의 효과와 여러 가지 유용물질의 작용으로 보여진다.

## 요 약

산란계에서 본 연구의 목적은 생균제(PY0.3%, PY0.5%)를 산란계에 급여하였을 때 산란율, 산란수, 난중, 등외란, 파란율 등을 조사하기 위하여 실시하였다. 산란계에서의 사양시험은 36주령 ISA brown 산란계 300수를 공시하였으며, 처리구로는 옥수수-대두박 기초 사료구(Con; basal diet), 기초 사료구에 일반 효모 0.3%(basal diet+0.3% 일반효모), 일반 효모 0.5%(basal diet+0.5% 일반효모), 활성 효모 0.3%(basal diet+0.3% 유전자 변형 효모), 활성 효모 0.5%(basal diet+0.5% 유전자 변형 효모)를 첨가한 것으로 구성되었다. 총 13주간의 사양시험 기간 동안, 산란율, 산란수, 난중, 등외란, 파란율 등을 연구했다. 사양시험에 이용한 닭은 각각 20수씩 3반복을 하였으며, 총 300수를 사용했다. 시험결과 시험군인 활성 효모 첨가군이 대조군에 비해서 산란율, 산란수, 난중에서 우수한 효과를 보였으며, 일반효모 첨가군에 비해서는 산란율, 산란수에 대해서는 우수하였으나 난중에서는 유의성이 없었다( $p < 0.05$ ). 등외란과 파란율에서는 첨가군에서 큰란이 생산되는 비율이 크다 보니까 상대적으로 등외란과 파란율이 높아진 면도 있다.

이러한 우수한 결과는 PY를 첨가함으로써 면역 기능강화와 bacteriocin의 기능과 효모에서 분비된 여러 가지 유용물질의 상호작용에서 기인된 결과로 보여지며 이런 이유로 사료효율 개선과 병원성 미생물의 억제효과 등이 복합적으로 작용하여 상승효과로 작용했기 때문이라고 추정된다.

## REFERENCES

1. 강상모, 이철수, 김영찬. 1996. Biosurfactant 생산 효모 *Rhodotorulam* sp. G-1의 분리 및 Biosurfactant 생산. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 24, No. 2: 185-190.
2. 김효진, 조진호, 진영걸, 김해진, 유종상, 왕원, 심재민, 김인호. 2008. 고에너지 사료 내 항생제와 효모제의 첨가가 육계의 생산성, 혈액 성분 및 도체 특성에 미치는 영향. *Korean J. Poult. Sci.* 35: 123-129.
3. 노선호, 이찬호, 최윤재, 한인규. 1994. 항생제, 효소제, 효모제, 생균제 및  $\beta$ -agonist가 육계의 성장과 영양소 이용률에 미치는 효과. *동물자원과학회지* 36: 630-638.
4. 박대영, 남궁환, 백인기. 2001. Yeast Culture(*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*)의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향. *한국가금학회지* 43: 630-646
5. 박대영, 남궁환, 백인기. 2002. Yeast Culture(*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*)가 육계의 생산성, 소장내 미생물 군총 및 혈청 IgG 농도에 미치는 영향. *동물자원과학회지* 44: 289-286.
6. 박성진, 유성오. 2000. 항생제, 생균제 및 효모제의 첨가가 육계의 성장과 육질에 미치는 영향. *한국가금학회지* 27: 203-208.
7. 박용준, 이영호, 강현삼, 백운화. 1991. 산업용 효모에서 *Bacillus subtilis* Endo- $\beta$ -1,4-Glucanase의 생합성 및 분비.

- Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 19, No. 4: 348-355.
8. 유종석, 백인기. 1990. 황성효모 첨가가 산란계의 생산성에 미치는 영향. *K. J. Poul. Sci.* **17**: 179-191.
  9. 이옥희, 장민경, 이동근, 이재화, 하종명, 하배진, 안익용, 조동인, 이상현. 2008. 박테리오신 OR-7을 생산하는 항공 효모의 제작. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 101-105.
  10. 이을연, 이봉덕, 지설하, 박홍석. 1995. 생효모배양물의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향. *한국가금학회지.* **22**: 77-84
  11. 박종명. 1999. EU의 사료첨가용 항생제 사용금지에 관한 규정 소개. *대한수의사회지.* **35**: 198-205.
  12. 장애무, 이봉덕, 오홍록, 이수기, 안길환. 2004. 효모의 급여가 육계의 생산성과 계육의 품질에 미치는 영향. *한국가금학회지* **31**: 1-7.
  13. Burns, J. M. and D. H. Baker. 1976. Assessment of the quantity of biologically available phosphorus in yeast RNA and single-cell protein. *Poultry Sci.* **55**: 1447-2445.
  14. Braude, R. 1942. Dried yeast as fodder for livestock. *J. inst. Brew.* **39**: 206.
  15. Chapple, R. P. 1981. Effects of calcium phosphorus levels and live yeast culture on phosphorus utilization of growing/fishing swine. MS Thesis University of Missouri Columbia Mo.
  16. Day, E. J., B. C., Dilworth and S. Omar. 1978. Effect of varying levels of phosphorus and live yeast culture in caged layer diets. *Poultry Sci* **66**: 1402-1420.
  17. Dubos, R. J. 1963 Staphylococcus and infection immunity. *Amer J Dis Child* **105**: 643-645.
  18. Jacobs-Reitsma, W. F. 1997. Aspects of epidemiology of *Campylobacter* in poultry. *Vet. Q.* **19**: 113-117.
  19. Kim, J. H., C. H. Kim and Y. D. Ko. 2001. Effects of dietary supplementation of probiotics(economix) on milk production and economic characteristics in lactating dairy cattle. *J Anim Sci & technol.* **43**: 369-380.
  20. Kim K., K. I., Jang, C. H. Kim and K. Y. Kim. 2002. Optimization of culture conditions and encapsulation of *Lactobacillus fermentum* YL-3 for probiotics. *Korean J Food Sci Technol* **34**: 255-262.
  21. Guo, F. C., R. P., Kwakkel, B. A., Williams, H. K., parmentier, W. K., Li, Z. Q. Yang and M. W. A. Verstegen. 2004. Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella*-infected chickens. *Poultry Sci.* **83**: 1124-1132.
  22. Line, J. E., J. S., Bailey, A. C. Nelson and J. S. Norman. 1997. Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* populations associated with broiler chickens subjected to transport stress. *Poultry Sci.* **76**: 1227-1231.
  23. Lyndan, O., and E. Work. 1951. The amino acid composition of two yeasts used to produce massive dietetic necrosis in rats. *Biochem. J.* **48**: 344.
  24. McCullough, M. E. 1980. How to feed for 20,000 pounds of milk. *Hoard's Dairyman.* **125**: 11
  25. Meng, X. and B. A. Slominski. 2005. Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. *Poultry Sci.* **84**: 1242-1251.
  26. Michiro, F and M. Nakano. 1996. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. *British Journal of Nutrition.* **76**: 857-867.
  27. NRC. 1994. Nutrient requirement of poultry. National Research Council National Academy of Science Washington DC.
  28. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**: 91-96.
  29. Pedroso, A. A., J. F. M., Menten, M. R., Lambais, A. M. C., Racanicci, F. A. Longo and J. O. B. Sorbara. 2006 Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. *Poultry Sci.* **85**: 747-752.
  30. Reynaldo, G. M. 1995. Using yeast culture and lactic acid bacteria in broiler breeder diets. *Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's Eleventh Annual Symposium.* **29**: 371-378.
  31. Rose, A. H. 1980. Recent research on industrially important strains of *Saccharomyces cerevisiae*. pp. 103-121. In Skinner, F. A. S. M. Passmore and P. P. Davenport (ed.), *Biology and Activities of Yeasts*. The society for Applied bacteriology Symposium Series Vol. **9**, Academic Press London.
  32. Santin, E., A., Maiorka, M., Macari, M., Grecco, J. C., Sanchez, T. M. Oakda and A. M. Myasaka. 2001. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Res.* **10**: 236-244.
  33. Shin, H. T., H. D., Bea, K. W., Chung, Y. K., Kim, J. H. Shon and S. K. Lee 1990. Evaluation of live yeast culture as source of probiotics for broiler. 5th AAAP **3**:1.
  34. Stark, B. A and J. M. Wilkinson. 1989. *Probiotics: Theory and Applications*. Chalcombe Publications Berks England.
  35. Stern, N. J., E. A. Svetoch, B. V. Eruslanov, V. V. Perelygn, E. V. Mitsevich, I. P. Mitsevich, V. D. Pokhilenko, V. P. Levchuk, O. E. Svetoch and B. S. Seal. 2006. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 3111-3116.
  36. Timmerman, H. M., A., Veldman, E., van den Elsen, F. M. Rombouts and A. C. Beynen. 2006. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Sci.* **85**: 1383-1388.
  37. Thayer, R. H., F. F., Burkitt, R. D. Morrison and E. E. Murray. 1978. Efficacy of utilization of dietary phosphorus by caged turkey breeder hens when fed rations supplemented with live yeast culture. *Anim Sci Res Rep* **MP-103**: 173-181 Oklahoma State Univ. Stillwater OK USA.