

계사 사육 형태가 산란계의 생산성과 스트레스 반응에 미치는 영향

손시환[†] · 장인석 · 손보람

경남과학기술대학교 동물생명과학과

Effect of Housing Systems of Cage and Floor on the Production Performance and Stress Response in Layer

Sea Hwan Sohn[†], In-Surk Jang and Bo Ram Son

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

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of housing systems on the productivity and physiological response as stress indicators in White Leghorn chickens. The chickens subjected to the conventional cages had a significantly lower viability, hen-housed egg production, egg weight and body weight compared with those to the floor pens. However, the hens housed in the conventional cages had a shorter day of the first egg and a greater egg quality compared with those housed in the floor pens. In addition, this study was also investigated to identify biological markers for assessing the physiological response of chickens under stress conditions. As biological markers, the amount of telomeric DNA was analyzed by quantitative fluorescent in situ hybridization on the nuclei of cells. The DNA damage rate of lymphocytes was also quantified by the comet assay. The amount of telomeric DNA of the lymphocytes, kidney and spleen was significantly higher in the chickens under floor pens than those under conventional cages. The DNA damage also increased in chickens raised under conventional cages, as compared to the chickens under floor pens. As results, we conclude that the chickens housed in conventional cages have a greater stressful status than those housed in floor pens.

(Key words : conventional cage, floor pen, production performance, telomere, DNA damage, stress, layer)

서 론

최근 동물복지에 대한 관심이 고조됨에 따라 기존 가축 사양 및 사육 체계에 많은 변화가 일고 있다. 특히 닭의 경우 유럽에서는 2006년부터 성장 축진을 위한 항생제 사용을 전면 금지하고 브로일러 사육 밀도에 대한 엄격한 가이드라인을 제시함과 더불어 2012년부터는 케이지 사육 생산란에 대해 식란으로 사용을 금지하는 등 매우 강도 높은 동물복지정책을 시행하고 있다(Langhout, 2005). 한편으로 동물복지에 대한 정의와 기준에 대해서도 많은 논란이 있었으나, 최근 유럽은 가금의 복지기준(EU FP6 Welfare Quality[®])을 설정하고 이를 평가 기준으로 하고 있다. 동물복지의 기본 원칙은 개체들이 양호한 사양 급이를 받아야 하고(feeding), 좋은 사육 시설에서 사육되며(housing), 최적의 건강을 유지하도록 하고(health), 습성에 따른 적절한 행동을 할 수 있어

야 한다(behavior). 이러한 기본 원칙에 대한 제한은 궁극적으로 개체에게 스트레스를 가하게 되어 동물 복지를 저해하게 된다(Butterworth, 2009). 동물 복지 논란에도 불구하고 전 세계적으로 대부분 산란계의 계사 사육 형태는 케이지 사육이 보편화되어 있는데, 이는 생산 효율적 측면에서 가장 바람직한 형태이기 때문이다. 그러나 동물 복지적 측면에서 이러한 사육 형태가 개체의 생리적 습성이나 건강적 측면에서 바람직하지 못하다는 다수의 학술적 연구들이 보고되었다(Baxter, 1994; Freire et al., 2003; Albentosa and Cooper, 2004). 따라서 기존 케이지 사육의 대체 사육 방식으로 확장 케이지(enriched cage), 에비어리(aviary system), 겸용 케이지(furnished cage), 평사(floor pen) 및 방사 등의 사육 형태가 소개되고 있다. 이러한 사육 방식들이 개체의 생산성과 복지와 관련된 생리적 반응에 미치는 영향에 대해 많은 연구들이 진행되고 있지만, 최적의 사육 방식 제시에는 아직은 논

[†] To whom correspondence should be addressed : shsohn@gntech.ac.kr

란이 많다(Rodenburg et al., 2005; Vits et al., 2005; Pohle and Cheng, 2009; Singh et al., 2009; Tactacan et al., 2009; Sherwin et al., 2010; Lay et al., 2011; Tuytens et al., 2011).

동물의 스트레스 반응 정도를 분석하기 위한 다양한 생리적 표지들이 소개되고 있는데, 대표적으로 혈액생화학적 지표와 혈장 코티코스테론(corticosterone) 농도가 스트레스 표지로 널리 알려져 있고(Mashaly et al., 1984; Thaxton et al., 2006; Turkyilmaz, 2008), interleukin-4(IL-4), IL-6, lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α 및 inducible nitric oxide synthase와 같은 사이토카인(cytokine)의 발현량 또한 면역 표지로서 스트레스 측정에 널리 이용되고 있다(Felten et al., 1998; Mashaly et al., 2004; Hangalapura et al., 2006; Kang et al., 2011). 그러나 이러한 표지들은 측정 조직이나 측정 시기 및 방법에 따라 심한 편차를 보여 다소 신뢰성에 문제가 있는 것으로 제시되고 있다. 최근 세포 내 텔로미어(telomere)의 함량이나 DNA 손상율과 같은 DNA 관련 biomarker들이 개체의 스트레스 정도를 가늠할 수 있는 새로운 표지로 대두되고 있다. 염색체의 양 말단부를 지칭하는 텔로미어는 세포 분열이 거듭됨에 따라 길이가 짧아지는데, 이러한 텔로미어의 감축 양상이 노화의 지표뿐만 아니라 개체의 생리적 표지로 알려져 있다(Meeker and Coffey, 1997; Cottliar and Slavutsky, 2001). 텔로미어의 감소가 세포의 노화에 따라 나타나는 것이기는 하나, 이의 감축 정도가 제반 환경적 요인에 의해서 많은 영향을 받는 것으로 나타난다. 이러한 환경 요인들 중 특히 산화적 스트레스가 텔로미어 유실을 가속화 시킨다고 밝혀졌다(Von Zglinicki, 2002; Richter and Proctor, 2007). 한편, 살아있는 동물들에 있어 일정량의 DNA 소실과 손상은 정상적 생리 상태 하에서 극히 자연스러운 현상이나 이들에 스트레스 요인을 가하게 되면 세포의 세포사(apoptosis)가 촉진되어 DNA 파손(fragmentation) 정도가 급격히 증가된다(Chen et al., 2007). 따라서 개체의 DNA 손상율은 스트레스 반응 정도를 간접적으로 나타낼 수 있는 지표이다.

산란계의 사육 형태가 개체의 생리적 습성 및 본능적 행동을 제한하는 스트레스 요인으로 작용하는지 여부와 이러한 스트레스 요인들이 개체의 생산 능력에 어떠한 영향을 미치는가는 현안이 되고 있는 동물복지관련 사육 형태 설정을 위해 필히 구명되어야 할 과제이다. 따라서 본 연구에서는 계사 사육 형태에 따른 닭의 스트레스 정도를 알아보기 위하여 단관백색레그혼종을 대상으로 케이지 사육 및 평사 사육으로 관리 후 이들의 생산 능력과 스트레스 관련 표지를 비교 분석 하였다. 개체의 생산 능력은 생존율, 초산 일령,

산란 지수, 난중, 난질 및 체중을 조사하여 사육 형태 간 능력들을 비교 분석하였고, 사육 형태별 스트레스 반응 정도는 조직 내 세포들의 텔로미어 함량과 혈액 세포 내 DNA 손상율을 분석 비교하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물 및 사육 형태

본 시험에 공시된 시험동물은 경남과학기술대학교 종합농장에서 부화하여 사육중인 단관백색레그혼 순계(Single Comb White Leghorn Pure Line) 496수를 대상으로 하였다. 공시계들은 케이지 육추 후 16주령부터 개체별 사육 방식을 케이지 사육군(cage) 및 평사 사육군(floor)으로 분리하여 동일 사육 방식으로 사육하였다(Fig. 1). 케이지군은 강제 환기 및 자동 온도 조절 시스템이 완비된 무창 계사 내 2단 4열 케

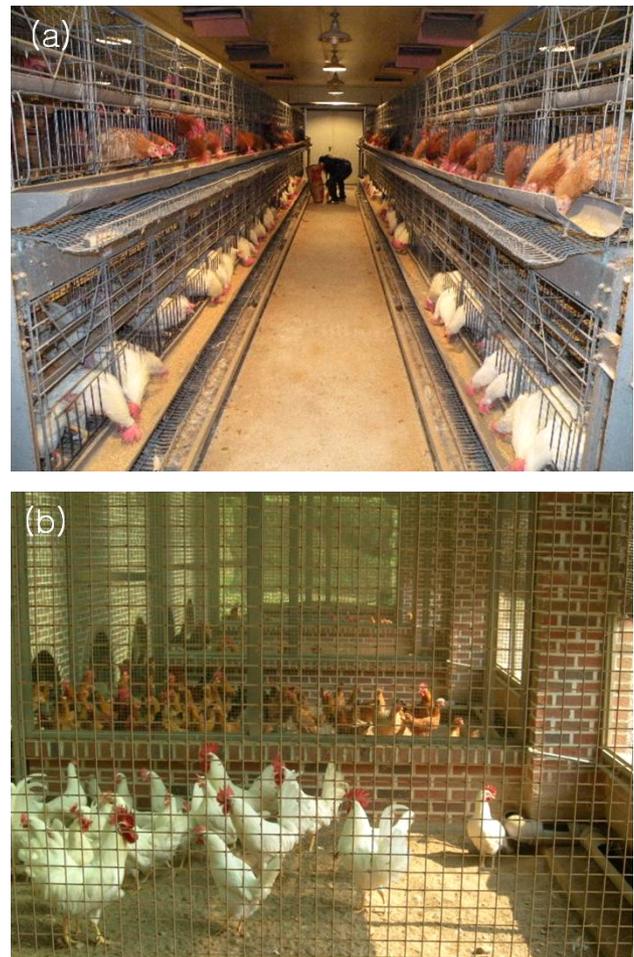


Fig. 1. The chicken housing system of conventional cage (a) and floor pen (b).

지 형태로 칸 당 90 cm(W)×90cm(L)×66cm(H)의 철망 배터리형 케이지에 10수씩(♀9:♂1) 혼사하였고(810 cm²/수), 평사군은 펜(pen) 형태의 개방식 계사로서 펜 당 400 cm(W)×700 cm (L)×380 cm(H) 크기의 방에 100수씩(♀90:♂10) 혼사하였다(2,800 cm²/수). 두 사육 방식 모두 자유급이 및 자유급수를 실시하였고, 점등 관리는 케이지사의 경우 점감점증법으로 20주령에 14시간으로 연장 후 매주 20분씩 점증하여 16시간에 이르면 고정하여 점등하고, 평사군은 자연일조 하에 사육하였다. 생산 능력은 16~64주령까지, 각종 시험 분석은 40주령 및 60주령 개체들을 대상으로 도살 후 조직을 채취하였다. 세부적인 사양 관리 방법은 본 대학교 산란계 사육 관리 지침에 따랐으며, 동물의 관리 및 취급은 본 대학 동물 실험윤리위원회(IACUC)의 규정을 준수하고 승인을 받았다.

2. 생산 능력 분석

생존율은 16주령부터 64주령까지 각 군별 반복 집단 의 설계 생존 수수로 분석하였다. 초산 일령은 각 군별 반복 집단의 산란율이 5%에 도달하는 시점으로 하였다. 산란율(hen-day egg production)은 초산 후 64주령까지 생존수수 대비 총 산란수의 비율로 나타내었고, 산란 지수는 동일 기간 동안 최초 입실수수 대비 총 산란수로 계산하였다. 난질은 40주령 산란한 각 군별 100개의 계란을 대상으로 난중, 난각색, 난백 높이, 하우유니트(HU), 난황색, 난각 두께, 난각 무게 및 난각밀도를 조사하였다. 체중은 60주령 암수 각 개체별 체중을 조사하였다.

3. 텔로미어 함량분석을 위한 표본 제작

텔로미어의 함량 분석은 혈액, 간, 심장, 신장, 비장, 정소 및 난소 조직을 대상으로 하였으며, 40주령 및 60주령에 채혈 및 도살 후 각 조직들을 떼어 분석하였다. 혈액을 제외한 각 조직들은 D-PBS(Gibco, Invitrogen Corp. Grand Island, N.Y, USA)용액으로 세척한 다음 세척 후 RPMI 1640(Gibco) 배양액이 들어있는 시험관으로 옮겨 10분간 원심분리시켰다. 침전된 세포에 0.9% sodium citrate(Sigma Chem, St Louis, MO, USA)용액을 첨가하여 15분간 저장처리하고, 이후 고정액을 10방울 정도 첨가하여 원심분리시켰다. 고정처리는 methanol과 acetic acid가 3:1로 혼합된 고정액을 이용하고, 이를 3회 반복 처리한 후 세포액을 3~5방울 정도 떨어뜨려 슬라이드 표본을 제작하였다. 혈액세포 표본의 제작은 개체의 날개 정맥으로부터 약 5 mL의 혈액을 채취하여 백혈구만 순수 분리하여 이용하였다. 백혈구의 분리는 Ficoll(Amersham Bioscience, Uppsala, Sweden)을 이용한 분리 방법으로

시행하였고, 분리된 세포는 0.06 M KCl(Sigma Chem)을 이용하여 실온에서 15분간 저장 처리하였다. 저장 처리 후 고정 및 표본 제작은 상기 조직에서와 동일한 방법으로 실시하였다.

4. 양적 형광접합보인법에 의한 Telomeric DNA 함량 분석

Telomeric DNA의 함량 분석을 위하여 chicken telomeric DNA probe를 이용한 형광접합보인법(Fluorescence *in situ* Hybridization; FISH)을 실시하였다. 슬라이드 표본을 RNase(Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA)로 RNA를 제거한 후 초자수로 세척하고 에탄올로 탈수 건조시켰다. 이후 Hybridization 용액(13 μL formamide, 5 μL hybridization buffer, 200 ng chicken telomeric DNA probe)을 떨어뜨린 후 밀봉하고 85℃에서 5분간 변성(denaturation)시킨 후 38.5℃에서 12시간 이상 접합(hybridization)시켰다. 접합 후 슬라이드를 2× SSC로서 72℃에서 5분간 처리하고, 실온의 PN buffer(0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40)로 세척하였다. 형광 접합 탐지를 위하여 anti-digoxigenin-fluorescein(Boehringer Mannheim)을 처리하고, 커버글라스로 덮은 후 38.5℃에서 30분간 반응시킨 다음 PN buffer로 세척하고 암소에서 건조시켰다. 배경 염색을 위해 propidium iodide solution(Sigma Chem)을 떨어뜨린 후 암소에서 건조시켰다. 형광 접합 발현 양상은 적녹 파장대의 필터(WIB filter)를 부착한 형광 현미경(Model AX-70, Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하였다. 처리된 슬라이드를 형광현미경으로 관찰한 후 평균 5개의 간기 핵을 한 프레임으로 하여 디지털 카메라(Model DP-70, Olympus)로 촬영하고, 이를 컴퓨터에 저장하였다. 저장된 상은 이미지 분석 프로그램(Image analyzer program, MetaMorph[®], UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 개체별 최소 100개 이상의 세포를 대상으로 핵 대비 telomeric DNA 분포량을 분석하였다.

5. DNA 손상율 분석

Comet assay를 위해 1% agrose로 도포한 슬라이드에 혈액과 0.5% low melting point agarose(LMPA)를 1:7.5로 혼합한 용액을 떨어뜨리고 냉장 상태로 굳혔다. 이를 다시 1% LMPA로 도포한 후 4℃ lysis solution(2.5 M NaCl, 100 mM disodium EDTA, 10 mM Trizma base)에 60분간 침지하였다. Lysis solution을 제거한 다음 전기영동장치에 electrophoresis buffer(pH>13)를 채우고 10분 정도 침지한 후 25 V, 300 mA로 30분간 전기영동하였다. 건조된 슬라이드는 propidium

iodide로 5분간 염색하고 냉장 초자수로 수세 후 형광현미경으로 관찰하였다. 관측된 상은 디지털카메라로 촬영하고 개체별 20개의 세포를 대상으로 Comet Score software v1.5(Tri-Tek Corp. Sumerduck, VA, USA)로 분석하였다. 분석 항목으로는 tail내 DNA 함유율(% DNA in tail; tail intensity/total comet intensity×100), tail내 DNA 생성률(tail moment; % DNA in tail×tail length) 및 올리브 모먼트(olive moment; tail intensity×total length / total comet intensity)를 조사하였다.

6. 통계처리

사육 형태 간 생산 능력, telomeric DNA 함량 및 DNA 손상율의 비교 분석은 SAS 통계 패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 *t*-test로 처리 평균간 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 계사 사육 형태에 따른 생산 능력

16주령부터 64주령까지 레그혼종을 케이지 및 평사로 사육 후 생존율, 초산 일령, 산란 지수 및 체중을 조사하고 사육 형태 간 이들의 평균값을 Table 1에 제시하였다. 또한 사육 형태에 따른 난질을 비교 분석하고자 40주령 산란한 각 100개의 계란을 분석하고 분석 결과를 Table 2에 나타내었다.

분석 결과, 생존율에 있어 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 유의하게 높은 생존율을 나타내었다($p<0.01$). 생존율은 동물 복지 지표 중 가장 중요한 요소로서, 본 시험 결과 산란기 동안 케이지 사육 개체들이 평사 사육 개체들에 비해 훨씬 높은 폐사를 보여 사육 형태 간 현저한 생존율의 차이를 나타내었다. 이는 여러 복합적 원인이 있겠으나, 케이지 사육 형태가 닭들에게 생리적으로 매우 큰 스트레스 요인으로 작용하는 것을 의미한다. Singh et al.(2009)은 상업용 실용산란계 3계통과 교잡종 1계통을 대상으로 케이지와 평사 사육 간 생존율을 비교 분석한 결과, 교잡종을 제외한 실용 산란계 3계통 모두가 평사 사육군이 유의하게 높은 생존율을 나타내었고, Guesdon et al.(2006)은 검용 케이지 사육구와 관행적 케이지 사육구 간의 생존율 비교에서 케이지 사육구의 폐사율이 훨씬 높았다고 보고하여 본 연구 결과와 동일한 결론을 제시하고 있다. 그러나 육종된 계종에 따라 생존율의 차이가 매우 크게 나타나는데, 유색계의 경우 육성 기간 중 평사 사육계들의 폐사율이 케이지 사육에 비해 훨씬 높다고 보고하였는데, 이는 육성 기간 중 평사 사육의 경우 개체들 간 심한 서열 다툼 등으로 인해 폐사수가 증가하였기 때문이다(Abrahamsson et al., 1996).

초산 일령에 있어서는 케이지 사육군이 평사 사육군에 비해 유의하게 빠른 산란을 나타내었다($p<0.01$). 이는 케이지

Table 1. Production performance in White Leghorns subjected to floor and cage housing system

Housing systems	Viability from 16 to 64 wks**	Age at first egg**	Hen-housed egg production until 64 wks**	Weight at 60 wks**	
				♂	♀
	(%)	(days)	(eggs)	(g)	
Floor	90.3±3.1	149.5±1.7	177.9±13.0	2,293.9±146.0	1,552.6±133.8
Cage	72.3±13.6	140.8±1.0	101.9±9.7	1,804.5±446.7	1,182.5±109.9
<i>p</i> value	<0.0001	0.0001	0.002	<0.0001	<0.0001

**Values (Means±SD) within the same column significantly differ ($p<0.01$).

Table 2. Egg quality of laying eggs at 40 weeks old White Leghorns raised under floor and cage housing system

	Egg shell color**	Egg weight**	Albumin height*	Haugh unit**	York color**	Egg shell thickness**	Egg shell weight**	Egg shell density**
Floor	77.46±2.66	66.26±4.26	7.50±1.53	83.79±9.50	7.95±0.67	0.014±0.001	5.27±0.84	68.99±10.47
Cage	75.68±2.96	63.67±4.96	7.93±1.46	87.26±8.44	7.53±0.74	0.015±0.001	5.61±0.86	75.29±10.44
<i>p</i> value	<0.0001	0.0001	0.04	0.007	<0.0001	0.0002	0.006	<0.0001

***Values (Means±SD) within the same column significantly differ at * $p<0.05$ and ** $p<0.01$.

사육 개체들은 인공 점등 상태로 사육하였고, 평사군의 경우 자연 일조 상태로 사육한데 영향을 있는 것으로 생각된다. 즉, 평사 사육군의 경우 초산의 시기가 7월 중순임을 감안할 때 일조량의 점감기가 초산을 지연시킨 주된 원인으로 사료된다. 따라서 평사 사육의 경우 부화계절에 따른 요인으로 일장시간이 초산 일령에 가장 큰 영향을 미치는 요인으로 사료되어 평사 사육과 케이지 사육이 초산 일령에 미치는 영향을 직접 비교하기에는 어려움이 있다.

산란 능력에 있어 초산시부터 64주령까지 산란 지수(hen-housed egg production)를 조사한 결과, 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 유의하게 높게 나타났($p < 0.01$). 평사군은 산란 peak가 40주령이 되어 도달하고 약 60%의 평균 산란율을 보인 반면, 케이지군은 33주령시 peak 산란율을 보이고 평균 산란율이 40% 정도로서 산란 지수가 70개 이상의 차이를 보였다. 이러한 산란 능력은 일반 실용산란계에 비해 매우 저조한 성적인데 이는 본 시험에 공시한 공시계종이 근친계통(inbred line)으로서 잡종 강세를 극대화한 실용 산란계와 생산 능력에서 많은 차이가 날 수밖에 없다. 계사 사육 형태에 따른 산란계의 산란 능력 비교 연구에서 많은 연구자들이 케이지와 평사 사육간에 산란율의 차이가 없음을 보고하고 있으며(Anderson and Adams, 1994; Singh et al., 2009), 기존 케이지 방식과 대체케이지 방식인 확장 케이지, 겸용 케이지 및 에비어리 방식간의 산란 능력 비교에서도 대부분 유의적 차이가 없음을 보고하고 있다(Taylor and Hurnik, 1996; Guesdon et al., 2006; Pohle and Cheng, 2009; Tactacan et al., 2009). 그러나 본 연구에서 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 훨씬 높은 산란 지수를 나타내었는데, 이는 케이지 사육군에서 초기 폐사수가 많음으로 인해 지수에 큰 영향을 미친 것으로 생각되고, 또한 케이지 사육 형태가 개체의 산란 능력에 직접적인 스트레스 요인으로 작용한 것으로 사료된다.

평사 사육 개체와 케이지 사육 개체에 대한 60주령 개체별 체중을 측정된 결과, 암수 모두 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 훨씬 높은 체중을 보였다($p < 0.01$). 이러한 결과는 사육 형태가 체중과 같은 생산 능력에 직접적으로 영향을 미치는 스트레스 요인임을 시사하는 것으로 케이지 사육과 같은 외부 환경 요인이 개체들에게 직접적 스트레스로 작용하여 성장률의 둔화를 야기시킨 것으로 사료된다. 산란계에 있어 사육 형태가 체중에 미치는 영향에 대한 연구는 그리 많지 않은데, 평사 사육개체들이 케이지 사육 개체들에 비해 산란 기간 동안 유의하게 높은 체중을 보였고(Singh et al., 2009), 또한 겸용 케이지 사육 개체들이 기존 케이지

사에 비해 30, 40, 50주령 체중에서 높게 나타남을 보고하여(Pohle and Cheng, 2009) 사육 형태가 개체들의 생리적 스트레스 요인으로 작용하여 체중에 영향을 미친다고 하였다.

평사 사육 및 케이지 사육으로부터 생산된 계란의 난질을 비교 분석한 결과, 난중을 포함한 모든 난질 지표에 사육 형태간 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 난중을 포함한 난각색, 난황색의 경우 평사 계군에서 생산된 계란이 케이지 사육군으로부터 생산된 계란에 비해 훨씬 양호한 결과를 보인 반면, 난백고, 하우유니트와 같은 내부 난질과 난각 두께, 난각 무게, 난각 밀도와 같은 난각질에서는 케이지 사육군이 평사 사육군에 비해 월등히 나은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 산란 능력과 연관된 난중이나 사료 이용성과 결부된 난각색 및 난황색 등은 평사 사육 계란이 우수하였고, 산란된 계란의 관리요인에 의해 주로 영향을 받는 내부 난질이나 난각질의 경우 케이지 사육군의 계란이 보다 나은 양상을 보였다. 평사와 케이지 사육 형태에 따른 난질의 비교 연구에서 난중 및 난황색은 평사 사육군이 좋았고, 난백고 등 내부 난질은 케이지 사육군이 양호하였다고 보고하여(Anderson and Adams, 1994; Singh et al., 2009) 본 연구와 거의 일치되는 결과를 제시하였다. 반면, 기존케이지와 대체케이지 사육 개체들 간에는 난중 및 난각질에 거의 차이가 없는 것으로 보고하였다(Taylor and Hurnik, 1996; Pohle and Cheng, 2009; Tactacan et al., 2009). 따라서 평사군의 경우 개체의 생리 활성도에 기인하여 외부 난질이 우수한 것으로 사료되며, 케이지 사육의 경우 생산된 계란들이 보다 위생적이고 빠른 관리 요인에 의해 내부 난질이 우수한 것으로 생각된다.

2. 사육 형태에 따른 텔로미어 함량

케이지 사육 및 평사 사육 형태가 산란계의 스트레스 반응에 미치는 영향을 텔로미어 함량으로 비교 분석하였다. 16주령 이후 사육 형태를 달리하고 40주령 때 각 사육 형태별 20수씩 도살하여 혈액, 간, 심장, 신장, 비장, 정소 및 난소 조직을 채취하여 이들 세포들의 텔로미어 함유율을 분석하였고, 60주령 때는 혈액 세포만을 대상으로 분석하였다.

각 조직들의 텔로미어 함량은 telomeric DNA probe를 이용하여 간기 세포 핵 양적 형광점합보인법(quantitative fluorescence in situ hybridization on interphase nuclei; IQ-FISH)으로 개체별 100개 이상의 세포에 대해 분석하였고, 백혈구 세포에 대한 대표적 텔로미어의 발현 양상을 Fig. 2에 제시하였다. 분석 결과, 혈액 내 백혈구 세포의 텔로미어 함유율은 16주령 시험 개시시 평균 2.58%로서 연령이 증가함에 따라 두 사육 형태 공히 텔로미어 함유율이 감소함을 보였다. 그

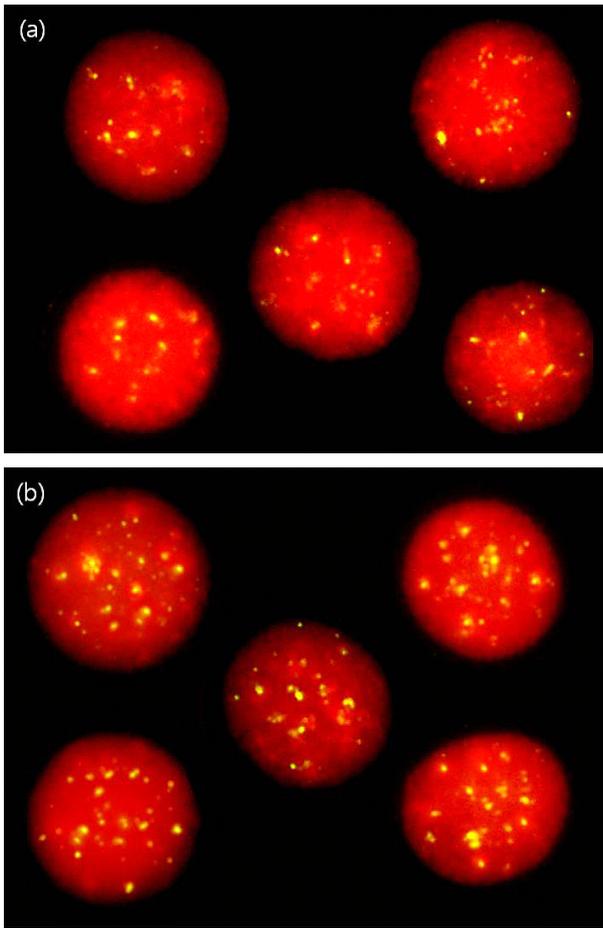


Fig. 2. The chicken lymphocyte nuclei treated by fluorescence *in situ* hybridization using a telomeric DNA probe. The relative amount of telomeric DNA was analyzed to be 1.08 (a) and 2.30 (b).

러나 혈액 세포의 경우, 케이지 사육 개체들의 텔로미어 함량이 평사 사육에 비해 훨씬 높은 감소율을 보이고, 연령이 증가함에 따라 이의 차이는 더욱 커지는 것으로 나타났다 (Table 3). 한편, 40주령 개체들의 간, 심장, 신장, 비장, 정소 및 난소 조직의 텔로미어 함유율은 사육 형태에 따라 신장

Table 3. The relative amount of telomeric DNA of lymphocytes in White Leghorns raised under cage and floor system

Housing systems	Relative amount of telomeric DNA(%) of lymphocytes at	
	40 weeks*	60 weeks**
Cage	1.65±0.17	1.36±0.22
Floor	1.76±0.14	1.52±0.19
<i>p</i> value	0.02	<0.01

***Values (Means±SD) within the same column significantly differ at * $p<0.05$ and ** $p<0.01$.

과 비장을 제외하고는 큰 차이를 보이지 않았다 (Table 4). 이러한 결과들로부터 백혈구 세포들의 텔로미어 함량은 다른 조직과 달리 스트레스에 매우 민감하게 작용하는 것으로 나타나, 사육 형태와 같은 스트레스 요인에 큰 영향을 받는 것으로 여겨진다. 즉, 백혈구 세포는 면역과 직접적 관련이 있는 것으로 스트레스와 같은 외적 요인에 보다 민감하게 반응하기 때문인 것으로 사료된다. 또한 증식성 세포인 신장의 경우와 면역 물질 분비기관인 비장의 경우 혈액세포와 마찬가지로 사육 형태에 따라 텔로미어 함량의 차이를 보임으로서 환경적 스트레스가 텔로미어 함량에 직접적 영향을 미치는 요인임을 알 수 있었다. 이러한 현상은 브로일러의 사육 밀도와 텔로미어 함량간의 관계에서도 동일한 결과를 나타내었는데, 고밀도 사육군의 경우 저밀도 사육군에 비해 현저한 텔로미어의 감축을 나타내어 텔로미어가 환경적 스트레스 지표로서 유효함을 시사한다 (Beloor et al., 2010). 따라서 계사 형태와 같은 사육 환경이 닭에 있어 개체의 스트레스 요인으로 작용함을 생리적 지표로서 확인하였다.

3. 사육 형태에 따른 DNA 손상을

40주령 및 60주령 레그혼종을 대상으로 케이지 사육 개체와 평사 사육 개체 간의 DNA 손상을 comet assay 방법으로

Table 4. The relative amount of telomeric DNA of tissues at 40 weeks old White Leghorns raised under cage and floor system

Housing systems	Relative amount of telomeric DNA(%) of					
	Liver	Heart	Kidney*	Spleen*	Testis	Ovary
Cage	1.56±0.21	1.46±0.20	1.59±0.18	1.51±0.13	2.10±0.19	2.01±0.15
Floor	1.66±0.20	1.50±0.22	1.73±0.13	1.63±0.14	2.07±0.15	2.02±0.16
<i>p</i> value	0.16	0.64	0.02	0.03	0.57	0.82

*Values (Means±SD) within the same column significantly differ at $p<0.05$.

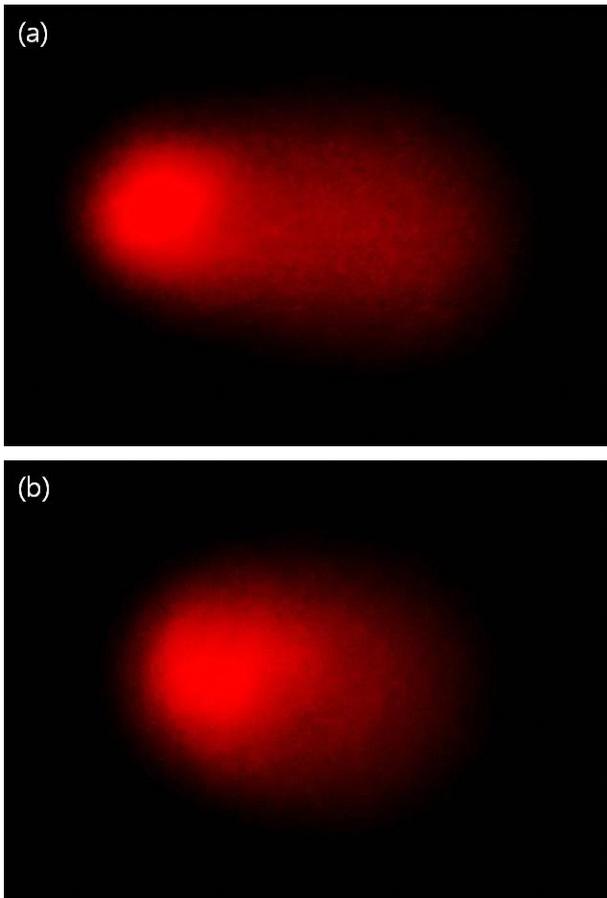


Fig. 3. The representative comet assay images of chicken lymphocytes. The % DNA in the tail, represented as DNA fragmentation, is determined to be 34.1% (a) and 20.2% (b).

분석하고, 이들 간의 차이를 검토하여 사육 형태가 개체의 스트레스 요인으로 작용하는 가를 살펴보았다.

Fig. 3은 백혈구 세포의 대표적 comet assay 양상이다. 그림에서 나타난 바와 같이 DNA 손상(fragmentation) 정도가 (a), (b)가 현저히 다를 수 있는데, 파손된 DNA 함유율(% DNA in tail)이 (a)의 경우 34% 정도이고, (b)는 20% 정도이다. 사육 형태별 comet score 분석 결과, 케이지 사육 개체들이 평사 사육 개체들에 비해 대부분의 분석 값에서 높은 DNA 손상율을 나타내고 있으며, 40주령에 비해 60주령에서 이러한 차이가 보다 현저하게 나타났다(Table 5, Table 6). 분석된 모든 항목에서 연령이 증가함에 따라 분석 값이 높아지는 것으로 나타나, 텔로미어 함유율과 같이 DNA 손상율도 연령에 따라 큰 영향을 받는 것으로 보여지는데, 연령이 증가함에 따라 스트레스의 민감도가 더욱 증가하는 것으로 나타난다. 본 연구에서 텔로미어 함유율과 % DNA in

Table 5. The comet assay values of lymphocytes at 40 weeks old White Leghorns raised under cage and floor system

Housing types	% DNA in tail*	Tail moment	Olive moment
Cage	24.94±5.70	16.32±8.82	21.66±8.66
Floor	21.20±4.39	12.83±6.63	18.17±6.21
<i>p</i> values	0.03	0.19	0.17

*Values (Means±SD) within the same column significantly differ at $p<0.05$.

Table 6. The comet assay values of lymphocytes at 60 weeks old White Leghorns raised under cage and floor system

Housing types	% DNA in tail*	Tail moment**	Olive moment**
Cage	33.15±6.84	53.58±9.91	42.52±12.29
Floor	30.64±5.73	42.81±26.78	39.71±8.84
<i>p</i> value	0.03	<0.001	0.006

***Values (Means±SD) within the same column significantly differ at * $p<0.05$ and ** $p<0.01$.

tail간에는 -0.24 의 부(負)의 상관관계가 존재하는 것으로 분석되었다. 한편, 정상적 생리 조건하에서 세포 내 DNA 손실은 자연스러운 현상인데, genomic DNA의 130,000 base당 최소 1 base 정도가 손상을 입는 것으로 알려져 있다(Richter et al., 1988). 그러나 이러한 세포들에 다양한 스트레스를 가하게 되면 DNA 손상은 급격히 증가하게 된다(Chen et al., 2007). 따라서 *in vitro* 실험에서 나타난 결과와 같이 생체에 있어서도 환경적 스트레스 요인이 DNA 손상을 촉진한다는 것을 본 연구에서 직접적으로 시사하고 있다. 이러한 결과들은 닭에 있어 케이지 사육 개체들이 평사 사육 개체들에 비해 세포의 apoptosis가 현저히 높아진다는 것을 의미하는 것으로 닭의 사육 형태가 개체들에게 중요한 스트레스 요인임을 시사한다.

적 요

계사 사육 형태에 따른 닭의 스트레스 정도를 알아보기 위하여 단관백색레그혼종을 대상으로 케이지 사육 및 평사 사육으로 관리 후 이들의 생산 능력과 스트레스 관련 표지를 비교 분석하였다. 개체의 생산 능력에 있어 생존율, 산란지수, 난중 및 체중은 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 유의하게 높은 성적을 보였고, 반면 초산 일령 및 난질의 경

우 케이지 사육군이 양호한 결과를 나타내었다. 사육 형태에 따른 닭의 스트레스 관련 표지로 형광접합보인법에 의한 텔로미어 함량 분석 및 comet assay에 의한 DNA 손상을 비교 분석하였다. 텔로미어 함량 분석 결과, 혈액 세포 및 신장, 비장 세포의 경우 평사 사육군이 케이지 사육군에 비해 유의하게 높은 텔로미어 함유율을 보이고, 연령이 증가함에 따라 이의 차이는 더욱 커지는 것으로 나타났다. DNA 손상은 케이지 사육군이 평사 사육군에 비해 유의하게 높은 손상율을 나타내어 케이지 사육이 평사 사육에 비해 훨씬 높은 스트레스 상태임을 알 수 있었다. 따라서 생존율을 포함한 생산 능력과 스트레스 표지 분석 결과, 산란계에 있어 케이지 사육 방식이 평사 사육 방식보다 개체들에게 생리적 스트레스 요인이 상대적으로 큰 것으로 사료된다.

(색인어: 케이지사, 평사, 생산 능력, 텔로미어, DNA 손상율, 스트레스, 산란계)

사 사

이 논문은 2009년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원 (No. 2009-0075057)과 농림수산식품부 농림기술개발사업 (109027-03-CG000) 및 농진청 공동연구사업 (PJ9070572011)에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Abrahamsson P, Tauson R, Appleby MC 1996 Behaviour, health and integument of four hybrids of laying hens in modified and conventional cages. *Br Poult Sci* 37:521-540.
- Albentosa MJ, Cooper JJ 2004 Effects of cage light and stocking on the frequency of comfort behaviors performed by laying hens in furnished cages. *Anim Welfare* 13:419-424.
- Anderson KE, Adams AW 1994 Effects of cage versus floor rearing environments and cage floor mesh size on bone strength, fearfulness, and production of single comb White Leghorn hens. *Poultry Sci* 73:1233-1240.
- Baxter MR 1994 The welfare problems of laying hens in battery cages. *Vet Rec* 134:614-619.
- Beloor J, Kang HK, Kim YJ, Subramani VK, Jang IS, Sohn SH, Moon YS 2010 The effect of stocking density on stress related genes and telomeric broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 23:437-443.
- Butterworth A 2009 EU FP6 Welfare Quality[®] poultry assessment systems. *Korean J Poult Sci* 36:239-246.
- Chen JH, Hales CN, Ozanne SE 2007 DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? *Nucleic Acids Res* 35:7417-7428.
- Cottliar AS, Slavutsky IR 2001 Telomeres and telomerase activity: their role in aging and in neoplastic development. *Medicina* 61:335-342.
- Felten SY, Madden KS, Bellinger DL, Kruszewska B, Moynihan JA, Felten DL 1998 The role of the sympathetic nervous system in the modulation of immune responses. *Adv Pharmacol* 42:583-587.
- Freire R, Wilkins LJ, Short F, Nicol CJ 2003 Behaviour and welfare of individual laying hens in a non-cage system. *Br Poult Sci* 44:22-29.
- Guesdon V, Ahmed AM, Mallet S, Faure JM, Nys Y 2006 Effects of beak trimming and cage design on laying hen performance and egg quality. *Br Poult Sci* 47:1-12.
- Hangalapura BN, Kaiser MG, Poel JJ, Parmentier HK, Lamont SJ 2006 Cold stress equally enhances *in vivo* proinflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Dev Comp Immunol* 30:503-511.
- Kang SH, Ko YH, Moon YS, Sohn SH, Jang IS 2011 Effects of the combined stress induced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Aust J Anim Sci* 24:414-420.
- Langhout DJ 2005 Development of European poultry industry in a global market. *Proceedings of 2005 KSPS International Symposium*:25-39.
- Lay DC Jr, Fulton RM, Hester PY, Karcher DM, Kjaer JB, Mench JA, Mullens BA, Newberry RC, Nicol CJ, O'Sullivan NP, Porter RE 2011 Hen welfare in different housing systems. *Poultry Sci* 90:278-94.
- Mashaly MM, Hendricks GL 3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH 2004 Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Sci* 83:889-894.
- Mashaly MM, Webb ML, Youtz SL, Roush WB, Graves HB 1984 Changes in serum corticosterone concentration of laying hens as a response to increased population density.

- Poultry Sci 63:2271-2274.
- Meeker AK, Coffey DS 1997 Telomerase: a promising marker of biological immortality of germ, stem, and cancer cells. *Biochemistry* 62:1323-1331.
- Pohle K, Cheng HW 2009 Comparative effects of furnished and battery cages on egg production and physiological parameters in White Leghorn hens. *Poultry Sci* 88:2042-2051.
- Richter C, Park JW, Ames BN 1988 Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6465-6467.
- Richter T, Proctor C 2007 The role of intracellular peroxide levels on the development and maintenance of telomere-dependent senescence. *Exp Gerontol* 42:1043-1052.
- Rodenburg TB, Tuytens FA, Sonck B, De Reu K, Herman L, Zoons J 2005 Welfare, health, and hygiene of laying hens housed in furnished cages and in alternative housing systems. *J Appl Anim Welf Sci* 8(3):211-226.
- Sherwin CM, Richards GJ, Nicol C 2010 Comparison of the welfare of layer hens in 4 housing systems in the UK. *Br Poult Sci* 51:488-499.
- Singh R, Cheng KM, Silversides FG 2009 Production performance and egg quality of four strains of laying hens kept in conventional cages and floor pens. *Poultry Sci* 88:256-264.
- Tactacan GB, Guenter W, Lewis NJ, Rodriguez-Lecompte JC, House JD 2009 Performance and welfare of laying hens in conventional and enriched cages. *Poultry Sci* 88:698-707.
- Taylor AA, Hurnik JF 1996 The long-term productivity of hens housed in battery cages and an aviary. *Poultry Sci* 75:47-51.
- Thaxton JP, Dozier WA 3rd, Branton SL, Morgan GW, Miles DW, Roush WB, Lott BD, Vizzier-Thaxton Y 2006 Stocking density and physiological adaptive response of broilers. *Poultry Sci* 85:819-824.
- Turkylmaz MK 2008 Effect of stocking density on stress reaction in broiler chickens during summer. *Turk J Vet Anim Sci* 32(1):31-36.
- Tuytens FA, Sonck B, Staes M, Van Gansbeke S, Van den Bogaert T, Ampe B 2011 Survey of egg producers on the introduction of alternative housing systems for laying hens in Flanders, Belgium. *Poultry Sci* 90(4):941-950.
- Vits A, Weitzenbürger D, Distl O 2005 Comparison of different housing systems for laying hens in respect to economic, health and welfare parameters with special regard to organized cages. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 112:332-342.
- Von Zglinicki T 2002 Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27:339-344.
- (접수: 2011. 9. 28, 수정: 2011. 10. 26, 채택: 2011. 10. 28)