

형질 전환 *Aspergillus oryzae*의 첨가가 산란계의 생산성, 계란 품질 및 장내 미생물 변화에 미치는 영향

정병윤* · 박세원* · 백인기* · 조경진** · 이상석**

중앙대학교 산업과학대학 동물자원과학과*, (주)진바이오텍**

The Effects of the Transgenic *Aspergillus oryzae* Supplementation on Performance, Egg Quality and Intestinal Microflora of Layers

B. Y. Jung*, S. W. Park*, I. K. Paik*, K. J. Cho** and S. S. Lee**

Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University* and Genebiotech Co., Ltd.**

ABSTRACT

An experiment was conducted to investigate the dietary effects of a transgenic *Aspergillus oryzae*(AO) culture on the performance, egg quality and intestinal microflora of layers. A total of 840 Hy-line Brown layers of 39wks old were assigned to one of the following 7 dietary treatments: control(C), C + 0.2% AO culture, C + 0.5% AO culture, C + 0.2% transgenic AO culture, C + 0.5% transgenic AO culture, C + 0.2% transgenic mutant AO culture, and C + 0.5% transgenic mutant AO culture. The transgenic AO was made by inserting *Salmonella gallinarum* gene to AO. And the transgenic mutant AO was made by inserting *Salmonella gallinarum* gene to mutant AO which was mutated by UV irradiation. Each treatment was replicated six times with 20 birds housed in 2 bird cage. Twenty birds units were arranged according to completely randomized block design. Feeding trial lasted for 8wks under 16 hour lighting regimen.

Laying performance and egg quality were significantly(P < 0.05) affected by the treatments. Transgenic AO culture supplementation at the level of 0.2% significantly increased egg production, while its egg weight was significantly decreased compared to that of the control. Feed intake and feed conversion ratio(FCR) were not significantly different among the AO treatments and the control. The eggshell strength of the AO treatments was significantly higher than that of the control. Transgenic mutant AO culture supplemented at the level of 0.5% significantly increased egg yolk color. Intestinal microflora were significantly(P < 0.05) affected by the treatments. The cfu of *Lactobacilli spp.* significantly increased and those of *Salmonella species* and *E. coli* decreased in the AO treatments. The transgenic AO and transgenic mutant AO culture were more effective than the AO culture in reducing the cfu of *Salmonella species* and *E. coli*.

It is concluded that supplementation of the transgenic AO culture at the level of 0.2% could be recommended for the improvement of egg production. Supplementation of transgenic AO or transgenic mutant AO culture at 0.2% level effectively controlled intestinal *Salmonella species* population.

(Key words : *Aspergillus oryzae*, Transgenic, Mutant, *Salmonella species*, Layer)

본 연구는 농림부 농림기술센터와 (주)진바이오텍의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

Corresponding author : I. K. Paik, Dept. of Animal Science, Chung-Ang University, Ansong-Si, Kyounggi-Do, Korea 456-756. ikpaik@cau.ac.kr

I. 서 론

최근 항생제의 사용이 많은 문제점을 야기하고 있어 축산물 생산에 이용할 수 있는 비항생제적 생물학적 물질들을 개발하게 되었는데, 대표적인 것이 효모나 곰팡이 배양물 및 생균제 등이다. 최근 널리 이용되는 곰팡이류는 *Aspergillus niger*와 *Aspergillus oryzae*(AO; 황국균)로 이들은 다양한 단백질 및 탄수화물 분해 효소를 생산함으로써 그 배양물 및 배양추출물이 널리 사용되고 있다(Wiedmeier 등, 1987; Gomez 등, 1990; Martin과 Nisbet, 1990). *Aspergillus oryzae*는 생육 pH와 온도범위가 매우 넓은 호기성 곰팡이로 다양한 유기성 폐자원을 기질로 이용할 수 있으며(Garraway와 Evans, 1984), 생산하는 효소는 amylase, xylanase 및 protease 등으로 이들 효소는 기질의 이용성을 증가시킴으로써 사료적 가치를 향상시키고(Pettersson 등, 1989), 동물 체내에서 생성되는 내인성 효소의 작용을 보충하여 영양소의 소화 및 체내 흡수를 용이하게 한다(Graham 등, 1988). 또한 *Aspergillus oryzae*는 균체 단백질 함량도 30~60% 이며 rivoflavin, folic acid 및 nicotinic acid 등의 비타민을 합성할 뿐만 아니라 발효과정에서 생성되는 미지성장인자 공급원으로서 가축의 성장을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Russo와 Heiman, 1959; Tsang과 Schaible, 1960). *Aspergillus oryzae*에 대한 연구로서 Mohan 등(1996)은 *Lactobacillus acidophilus*, *L. Casei*, *Bifidobacterium vifidum*, *Aspergillus oryzae*와 *Torulopsis*로 제조된 생균제를 육계에

급여 시 체중과 질소 축적량이 향상되었다고 보고하였고, Thayer와 Jackson(1975)의 보고에 따르면 생효모 배양물을 육성계에 급여시 인의 이용성을 증진시킨다고 하였다. Harms와 Miles(1988)는 *Aspergillus oryzae* 배양물인 Fermacto[®] 500을 산란계에 급여함으로써 산란율과 사료효율이 개선된다고 보고 하였으며, 단백질과 지방의 소화율이 증가되었다고 하였다(Grimes 등, 1997). Han 등(1999)은 *Aspergillus oryzae*를 산란계에 급여시 *E. coli*와 호기성 박테리아는 감소하고 유산균은 증가하는 경향을 나타내어 살모넬라를 감소 시킨다고 보고하였다. 또한 Line 등(1998)은 생효모를 육용종계에 급여 하였을 때, 맹장에서 살모넬라 균체가 감소하였다고 보고하였다.

본 실험은 정상 AO와 *Salmonella* 병원 특이 유전자 삽입 형질전환 AO(transgenic AO) 그리고 UV에 의해 생산된 mutant AO를 *Salmonella* 병원 특이 유전자를 삽입시킨 AO(transgenic mutant AO) 배양물들의 첨가가 산란계의 생산성, 계란 품질 및 장내 미생물 균총 변화에 미치는 영향을 평가하기 위해서 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험 사료

시험에 사용된 처리사료들은 Table 1에서 보는 바와 같다. 대조구 사료는 CP 18.5%, ME 2,800 kcal/kg, Ca 3.85%의 산란증기사료로 배합비 및 영양소 함량은 Table 2와 같다. AO

Table 1. Treatment of experimental diets

Treatment	Content
C	Control diet
AO - 0.2	Control diet + <i>Aspergillus oryzae</i> (AO) culture 0.2%
AO - 0.5	Control diet + AO culture 0.5%
TAO - 0.2	Control diet + Transgenic AO culture(TAO) 0.2%
TAO - 0.5	Control diet + TAO culture 0.5%
TMAO - 0.2	Control diet + Transgenic mutant AO culture(TMAO) 0.2%
TMAO - 0.5	Control diet + TMAO culture 0.5%

Table 2. Formula and composition of control diet

Ingredients	%
Corn	52.07
Soybean meal	20.37
Rice bran	1.50
Wheat bran	2.50
Lupin kernel	5.00
Limestone	9.41
Tallow	3.07
Salt	0.21
Oyster shell	0.80
Corn gluten feed	3.50
Tri-calcium phosphate(TCP)	0.86
Additives ¹⁾	0.15
Electrolytes ²⁾	0.15
Vitamin premix ³⁾	0.13
Mineral premix ⁴⁾	0.12
Phytase ⁵⁾	0.03
Choline(50%)	0.07
Methionine hydroxy analogue(MHA: 88%)	0.06
Total	100
Calculated composition	
ME (kcal/kg)	2,800
Calcium (%)	3.85
Total P (%)	0.50
Available P (%)	0.38
Crude protein (%)	18.50
Lysine (%)	0.87
Methionine (%)	0.40
Met.+Cys. (%)	0.68
Crude fat (%)	5.92
Crude fiber (%)	3.29
Crude ash (%)	13.16

¹⁾ Contains per kg: cyromazine, 5 ppm; vitamin E, 15 ppm; vitamin C, 100 ppm.

²⁾ Consist of: KCl, 35%; NaHCO₃, 40%; Na₂SO₄, 25%.

³⁾ Contains per kg: vitamin A, 10,000 KIU; vitamin D₃, 2,500 KIU; vitamin E, 15 KIU; vitamin K₃, 2,000 mg; vitamin B₁, 1,500 mg; vitamin B₂, 4,000 mg; vitamin B₆, 3,000 mg; vitamin B₁₂, 3,000 µg; pantothenic acid, 8,000mg; niacin, 25,000 mg; folic acid, 500 mg.

⁴⁾ Provides per kg diet: Zn, 52.5 mg; Mn, 52.5 mg; Fe, 52.5 mg; Cu, 5.25 mg; I, 1.155 mg; Co, 0.315 mg; Se, 0.315 mg.

⁵⁾ Phytase: provided by BASF Korea Ltd.

culture는 *Aspergillus oryzae*를 대두박과 밀기울 1:2 혼합한 배지에 접종하여 배양한 배양물로서 사료 내 각각 0.2%와 0.5%를 첨가하였으며, transgenic AO culture는 *Salmonella gallinarum* 병원특이 유전자를 삽입(이동규, 2004)하여 형질 전환한 AO를 대두박과 밀기울을 혼합한 배지에 접종하여 배양시킨 것으로 0.2% 및 0.5% 첨가하였다. Transgenic mutant AO culture는 AO를 UV-mutation법(이동규, 2004)으로 UV를 조사(照射)하여 단백질 분해효소 활성을 감소시킨 mutant AO에 *Salmonella gallinarum* 병원 특이 유전자를 형질 전환시켜 발효한 배양물을 사료 내 각각 0.2%와 0.5%를 첨가하였다.

AO 형질전환은 polyethyleneglycol (PEG)과 electroporation에 의한 DNA 전이법으로 실시하였으며 각 방법에 따라 AO 형질전환 vector인 pPTR II-SSP2를 transformation한 후 AO protoplast를 0.2 µg/ml의 pyrithiamine을 포함하는 Czapek-Dox (CD) 선발한천배지에 중층 도말하여 30℃에서 5일간 배양(Takafumi 등, 2000; Chakaborty 등, 1991)하여 AO transformation한 후 60℃로 건조하여 첨가 급여하였다.

2. 시험 설계

39주령 산란계(Hy-line Brown) 840수를 선별하여 A형 3단 케이지에 대조구를 포함하여 총 7개의 처리구로 구성하여 처리 당 6반복, 반복 당 20수씩 난괴법으로 배치하였다. 시험기간은 2004년 4월 28일~6월 23일까지 총 8주간 실시하였으며, 시험기간 동안 물과 사료는 자유 섭취하게 하였고 정상적인 점등관리(자연일조+조명; 16시간)를 실시하였다.

3. 조사 항목

(1) 산란 생산성 및 계란 품질

산란율(hen-day egg production, hen-housed egg production), 난중(egg weight), 연파란 발생율(soft & broken egg production)을 매일 측정하여 주별 평균을 계산하였고, 사료섭취량(feed intake)

은 주 1회 조사하여 사료요구율(feed conversion ratio; FCR)을 산출하였다.

계란 품질 검사는 주 1회씩 총 8회에 걸쳐 주중 하루에 생산된 총 계란 중 임의적으로 선택하여 반복 당 5개, 처리 당 30개씩 취하여 실시하였다. 난각 강도(eggshell strength)는 Texture Test Systems(T2100C, Food Technology Co., USA)을 이용해 측정하였고, 난각 색도(eggshell color)는 Eggshell Color Fan (㈜삼양사배합사료)을 이용해 측정하였다. 난황 색도(egg yolk color)는 Yolk Color Fan(Roche社)을 이용하여 측정하였으며, Haugh unit는 Roush(1981)의 방법에 준하여 실시하였다.

(2) 장내 미생물 균총 변화 조사

실험 개시 후 5주와 8주에 대조구와 시험구에서 각각 3수씩 임의적으로 선별하여 총 42수를 가지고 소장하부를 각각 10 cm씩 일정하게 절개하여 모든 내용물을 멸균된 용기에 담아 분석 전까지 -50°C 에서 냉동보관 하였다. 냉동 보관한 장내용물 1g을 50 ml tube에 각각 넣은 후 9 ml의 생리 식염수를 첨가하고, 4°C 에서 30분간 추출 후 추출 현탁액을 적정 비율로 희석하여 각각의 선택배지에 도말하여 균수를 측정하였다. 장내 미생물 균총 변화 분석은 각 균주의 특성에 맞는 선택배지를 이용하였으며, *E. coli* 분석은 Chromocult agar(Merck), *Salmonella spp.* 분석은 MacConkey agar(DIFCO), *Lactobacilli spp.* 분석은 BCP plate count agar(Eiken, Japan) 배지를 이용하였다.

4. 통계 처리

시험에서 얻어진 자료의 통계처리를 위하여 각 반복당 주당 평균생산성을 이용하여 SAS[®] (1996)의 GLM(General Linear Model) Procedure를 이용하여 산란 생산성, 계란 품질 및 장내 미생물 수를 분석하였으며, 처리의 평균 간 비교는 Duncan's new multiple range test에 의하여 $P < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 산란 생산성

Table 3은 산란 생산성과 계란의 품질에 미치는 영향을 보여주고 있다. 일계산란율(hen-day egg production)은 8주 평균에서 transgenic AO culture(TAO) 0.2% 첨가구가 대조구보다 유의적으로 높았으며, TAO culture 0.5% 첨가구를 제외한 다른 AO 첨가구들도 대조구보다 높은 경향을 나타내었다. Grime 등(1997)은 AO 배양물의 급여가 산란계에서 영양소의 이용성을 개선시켜 단백질과 지방소화율을 증가시킨다고 보고하였으며, Harms와 Miles(1998), Mohan 등(1995)도 산란계를 이용한 곰팡이 배양물의 급여 시험에서 생산성이 향상 되었다고 보고 하였다. 그러나 TAO culture 0.5% 첨가구가 대조구에 비해서 유의적으로 낮은 결과에 대해서는 확인 규명 시험이 추가적으로 필요하다고 사료된다. 산란지수(hen-housed egg production)에 있어서는 대조구와 모든 첨가구간에 유의적인 차이는 없었지만 TAO culture 0.5% 첨가구를 제외한 다른 AO 첨가구들에서는 대조구보다 높은 경향을 나타내었다. 난중은 AO 첨가구들이 대조구보다 가벼웠는데, 일반적으로 산란율이 증가하면 난중이 상대적으로 감소한다는 보고와 같은 결과를 나타내었다. 그러나 Han 등(1999)은 AO 급여시 난중이 증가하는 경향을 나타낸다고 보고한 경우도 있다. 연파란율은 transgenic mutant AO(TMAO) culture 0.5% 첨가구가 유의적으로 가장 낮았으며, TAO culture 0.2% 첨가구를 제외한 다른 AO 첨가구들은 대조구에 비해 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 Mohan 등(1995)의 시험에서도 *Lactobacillus acidophilus*, *L. Casei*, *Bifidobacterium vifidum*, *Aspergillus oryzae*와 *Torulopsis*로 제조된 생균제를 산란계에게 급여 시 계란 품질에서 난각 두께가 두꺼워지는 경향을 나타내었다는 보고와, Han 등(1999)의 AO culture 첨가시험 결과 난각 두께가 두꺼워지는 경향을 나타낸다는 보고와 유사하였다. 사료섭취량과 사료요구율(feed conversion ratio)은 대조구와 모

Table 3. Summary of laying performance and egg quality during 8 wk experiment

Item	Treatment ¹⁾							SEM
	C	AO-0.2	AO-0.5	TAO-0.2	TAO-0.5	TMAO-0.2	TMAO-0.5	
Performance								
Hen-day egg production (%)	90.74 ^{bc}	91.80 ^{abc}	92.33 ^{ab}	92.88 ^a	90.00 ^c	92.38 ^{ab}	92.39 ^{ab}	0.720
Hen-housed egg production (%)	90.12 ^{ab}	91.16 ^a	91.71 ^a	92.26 ^a	89.02 ^b	91.74 ^a	91.76 ^a	0.741
Egg weight (g)	67.20 ^a	66.77 ^{ab}	66.42 ^{bc}	66.37 ^{bc}	66.59 ^b	66.80 ^{ab}	66.01 ^c	0.166
Broken & soft egg (%)	0.69 ^{ab}	0.35 ^{bc}	0.50 ^{ab}	0.82 ^a	0.62 ^{ab}	0.55 ^{ab}	0.07 ^c	0.125
Feed intake (g/day)	123.01 ^{ab}	120.72 ^b	123.00 ^{ab}	122.70 ^{ab}	122.50 ^{ab}	125.70 ^a	127.10 ^a	1.577
Feed conversion ratio (g/100g egg mass)	2.02 ^{ab}	1.97 ^b	2.00 ^b	1.99 ^b	2.04 ^{ab}	2.04 ^{ab}	2.09 ^a	0.027
Egg quality								
Eggshell strength (kg/cm ²)	3.55 ^b	3.78 ^a	3.84 ^a	3.77 ^a	3.74 ^a	3.91 ^a	3.85 ^a	0.059
Eggshell color ²⁾	12.00 ^{ab}	11.59 ^{ab}	12.05 ^a	11.73 ^b	11.87 ^{ab}	11.95 ^{ab}	11.90 ^{ab}	0.097
Egg yolk color ³⁾	7.75 ^b	7.76 ^b	7.85 ^b	7.79 ^b	7.87 ^b	7.87 ^b	8.00 ^a	0.043
Haugh unit	82.49 ^{ab}	82.94 ^{ab}	82.41 ^{ab}	82.32 ^{ab}	81.58 ^b	82.46 ^{ab}	83.70 ^a	0.467

¹⁾ C: control diet, AO-0.2: C + *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, AO-0.5: C + *Aspergillus oryzae* culture 0.5%, TAO-0.2: C + Transgenic *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, TAO-0.5: C + Transgenic *Aspergillus oryzae* culture 0.5%, TMAO-0.2: Transgenic mutant *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, TMAO-0.5: Transgenic mutant *Aspergillus oryzae* culture 0.5%.

²⁾ Determined by Eggshell Color Fan (Samyang Feed Co.).

³⁾ Determined by Roche Color Fan.

^{a-c} Means within each row with no common superscript differ ($P < 0.05$).

든 AO 첨가구간에 유의적 차이는 나타나지 않았는데, 이는 AO culture를 육계에 급여 시 사료섭취량은 유의적 차이가 없다고 보고한 고와 황(1999)이나, 사료요구율에 대한 개선 효과는 나타나지 않았다는 김 등(2003)의 결과와 유사하였다.

2. 계란 품질

Table 3에서 보는 바와 같이, 계란 품질에 있어서 난각 강도는 대조구 보다 모든 AO 첨가구에서 유의적으로 높게 나타났는데, Han 등(1999)의 보고와 유사한 결과를 보인다. AO culture 첨가구들이 난각의 강도를 강화시키는 이유는 정확히 규명되지 않았으나, AO내 Ca이나 P와 같이 난각에 영향을 주는 광물질은 유기물로 chelate화 되어 있으며 AO가 생성 분비하는 vitamin D와 여러 가지 효소작용에 영향

을 받은 것이라고 추측된다. 난각 색도는 대조구와 모든 첨가구간에 유의적인 차이가 없었다. 난황 색도는 TMAO culture 0.5% 첨가구가 유의하게 높았으나, 다른 AO 첨가구들과 대조구간에는 유의적 차이가 나타나지 않았다. TMAO가 어떤 착색물질을 생산하는지에 대해서는 본 연구에서 더 이상 밝혀지지 않았다. Haugh unit는 대조구와 모든 AO 첨가구간에 유의적 차이가 발견되지 않았다.

3. 장내 미생물 균총 변화

Table 4는 AO 첨가들이 장내 미생물 균총에 미치는 영향을 보여주고 있다. *Salmonella spp.*의 경우, 시험 개시 후 5주와 8주 평균에서 모든 AO 첨가구가 대조구보다 유의적으로 낮았으며, TAO culture 0.2% 및 0.5% 첨가구와 TMAO culture 0.2% 및 0.5% 첨가구에서는 *Salmonella*

Table 4. Influence of supplemental *Aspergillus oryzae* cultures on the population of *Salmonella spp.*, *E. coli* and *Lactobacilli spp.* in intestinal contents of laying hens at 5 & 8th wk of experiment

wk	Microbes	Treatment ¹⁾ (cfu/g, × 10 ⁵)						SEM	
		C	AO-0.2	AO-0.5	TAO-0.2	TAO-0.5	TMAO-0.2		TMAO-0.5
5	<i>Salmonella spp.</i>	4.17 ^a	2.17 ^b	2.03 ^b	0.10 ^c	0.00 ^c	0.07 ^c	0.00 ^c	0.556
	<i>E. coli</i>	2.88 ^a	2.17 ^b	0.95 ^c	0.58 ^d	0.49 ^d	0.50 ^d	0.44 ^d	0.087
	<i>Lactobacilli spp.</i>	0.76 ^c	0.76 ^c	1.85 ^{ab}	1.87 ^{ab}	1.53 ^b	2.48 ^a	2.26 ^{ab}	0.244
8	<i>Salmonella spp.</i>	5.00 ^a	2.23 ^b	2.07 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.549
	<i>E. coli</i>	2.33 ^a	1.00 ^b	0.59 ^{bc}	0.43 ^c	0.24 ^c	0.27 ^c	0.20 ^c	0.159
	<i>Lactobacilli spp.</i>	0.52 ^d	2.02 ^c	4.00 ^a	1.50 ^c	1.37 ^c	4.56 ^a	3.20 ^b	0.210
Ave.	<i>Salmonella spp.</i>	4.58^a	2.20^b	2.05^b	0.05^c	0.00^c	0.03^c	0.00^c	0.357
	<i>E. coli</i>	2.61^a	1.58^b	0.77^c	0.51^c	0.36^c	0.38^c	0.32^c	0.144
	<i>Lactobacilli spp.</i>	0.64^c	1.39^{bc}	2.93^a	1.68^b	1.45^{bc}	3.52^a	2.73^a	0.322

¹⁾ C: control diet, AO-0.2: C + *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, AO-0.5: C + *Aspergillus oryzae* culture 0.5%, TAO-0.2: C + Transgenic *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, TAO-0.5: C + Transgenic *Aspergillus oryzae* culture 0.5%, TMAO-0.2: Transgenic mutant *Aspergillus oryzae* culture 0.2%, TMAO-0.5: Transgenic mutant *Aspergillus oryzae* culture 0.5%.
^{a-d} Means within each row with no common superscript differ (P < 0.05).

*spp.*가 거의 검출되지 않았다. 이러한 결과는 Han 등(1999)의 연구 결과와 일치하며, 김 등(2003)의 결과에서도 AO를 육계에게 급여 시 회장의 *Salmonella*가 유의적으로 감소하였다고 보고 하였다. *E. coli*의 경우, *Salmonella spp.*와 마찬가지로 시험 개시 후 5주와 8주 평균에서 모든 AO 첨가구들이 대조구보다 유의적으로 감소하였으며, 특히 TAO와 TMAO culture 첨가구들의 *E. coli* 감소 효과는 매우 컸다. AO culture의 경우 0.5% 첨가구가 0.2% 첨가구보다 *E. coli* 수를 더 많이 감소 시켰으나, TAO나 TMAO culture 첨가구들에서는 첨가수준에 따른 차이는 유의하지 않았다. Han 등(1999)도 산란계에서 AO 배양물을 급여하였을 때 *E. coli*의 수가 감소하였다고 보고하였다. *Lactobacilli spp.*의 경우, *Salmonella spp.*와 *E. coli*와는 달리 사료 내 AO culture를 첨가한 모든 첨가구가 대조구보다 유의적으로 높아지는 경향을 나타내었는데, 이러한 결과는 Han 등(1999)의 보고와 일치한다.

이상의 결과를 종합적으로 고찰해 보면, 산

란계 사료에 *Aspergillus oryzae*와 형질 전환 시킨 *Aspergillus oryzae*의 배양물 첨가구는 첨가하지 않은 대조구에 비해 우수한 산란 성적을 나타내었다. 특히 *Salmonella gallinarum* 병원특이 유전자를 삽입하여 형질 전환한 TAO culture 0.2%를 첨가한 첨가구에서 생산성(산란율과 사료전환율) 개선 효과가 가장 높았으며, 연파란율과 난황 색도에서는 TMAO culture를 0.5% 첨가한 첨가구가 가장 좋았다. 장내 미생물 변화에 있어서는 사료 내 AO culture를 첨가한 모든 첨가구에서 대조구 보다 유의적으로 *Lactobacilli spp.* 수는 상승하였고, 반대로 *E. coli*와 *Salmonella spp.* 수는 유의적으로 감소하였는데, 사료 내 AO culture 첨가는 장내에서 직접적으로 활동하거나 증식하지는 않지만, 효모 배양물과 마찬가지로 유익균의 증식을 도움으로서 유익균 수를 증가시키고, 증가한 유익균은 경쟁적 배체에 의해서 *Salmonella spp.*의 수를 감소시킬 뿐만 아니라, *E. coli* 수도 감소시킨다고 추론된다. 특히 TAO와 TMAO의 *Salmonella spp.* 감소 효과는 강력하였다. 따라

서 TAO와 TMAO는 가급티프스(*Salmonella typhoid*) 예방에도 효과가 있을 것으로 사료되어 실용화 가능성에 대한 추가적인 검토가 필요할 것이다.

IV. 요약

본 연구는 메주에서 순수 분리된 메주곰팡이의 대표적 균종인 황국균 (*Aspergillus oryzae*; AO)으로 만든 AO culture와 *Salmonella* 병원특이 유전자를 삽입한 형질전환 AO (TAO) culture가 산란계의 생산성, 계란 품질 및 장내 미생물 균총에 미치는 영향을 규명하고자 실시하였다. 39주령 산란계 Hy-line Brown 840수를 공시하여 대조구, AO culture 0.2%와 0.5%, TAO culture 0.2%와 0.5%, UV를 조사하여 단백질 분해효소를 감소시킨 mutant에 *Salmonella* 병원특이 유전자를 삽입한 형질전환 AO (TMAO) culture 0.2%와 0.5% 첨가구들을 비교하였다. 각 첨가구는 6반복, 반복당 20수씩, 한 케이지당 2수씩 배치하여 8주간 사양시험을 실시하였다.

사양시험 결과 모든 산란 생산성 및 계란 품질 관련 조사항목에서 처리간에 유의한($P < 0.05$) 차이가 있었다. TAO culture 0.2% 첨가구가 산란 생산성에 있어서 유의적으로 가장 높았으며, 난중은 모든 AO 첨가구들이 대조구에 비해 유의적으로 낮거나 낮아지는 경향을 나타내었다. 연과란율은 TMAO culture 0.5% 첨가구가 가장 낮았다. 사료섭취량과 사료요구율은 대조구와 모든 AO 첨가구들간에 유의적 차이가 나타나지 않았다. 난각 강도는 대조구 보다 모든 AO 첨가구들에서 유의적으로 높게 나타났으며, 난황 색도는 TMAO culture 0.5% 첨가구에서 가장 높았다. 난각 색도와 Haugh unit은 대조구와 모든 AO 첨가구들간에 유의적 차이가 나타나지 않았다. 장내 미생물 균총(*Salmonella spp.*, *E. coli*, *Lactobacilli spp.*)에서는 유의적($P < 0.05$) 차이가 있었다. AO culture 첨가에 의해서 *Lactobacilli spp.*의 수는 증가되고, *E. coli* 및 *Salmonella spp.*의 수는 감소되었다. 특히 TAO와 TMAO culture 첨가구에서는 AO

culture 첨가구보다 *Salmonella spp.* 및 *E. coli* 억제효과가 컸으며 첨가수준(0.5% vs 0.2%) 간에는 유의한 차이가 없었다. 결론적으로 TAO culture 0.2% 첨가는 산란 생산성 증가에 효과가 있었으며 TAO 및 TMAO culture 0.2% 첨가는 장내 *E. coli* 및 *Salmonella spp.*의 감소에 유의한 효과가 있었다.

(색인 : 황국균, 형질전환, Mutant, *Salmonella spp.*, 산란계)

V. 인용 문헌

1. Chakraborty, B. N., Patterson, N. A. and Kapoor, M. 1991. An electroporation-based system for high-efficiency transformation of germinated conidia of filamentous fungi. *Can. J. Microbiol.* 37:858-863.
2. Garraway, M. O. and Evans, R. C. 1984. Fungal nutrition and physiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
3. Gomez-Alarcon, R. A., Dudas, C. and Huber, J. T. 1990. Influence of cultures of *Aspergillus oryzae* on rumen and total tract digestibility of dietary components. *J. Dairy Sci.* 73:703-710.
4. Graham, H., Lowgren, W., Pettersson, D. and Aman, P. 1988. Effect of enzyme supplementation on digestion of a barley/pollards-based pig diet. *Nutr. Rep. Inter.* 38:1073-1079.
5. Grimes, J. L., Maurice, D. V., Lightsey, S. F. and Lopez, J. G. 1997. The effect of dietary Fermacto on layer hen performance. *J. Appl. Poultry Res.* 6:399-403.
6. Han, S. W., Lee, K. W., Lee, B. D. and Sung, C. G. 1999. Effect of feeding *Aspergillus oryzae* culture on fecal microflora, egg qualities, and nutrient metabolizabilities in laying hens. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 12(3):417-421.
7. Harms, R. H. and Miles, R. D. 1988. Influence of Fermacto on the performance of laying hens when fed diets with different levels of methionine. *Poultry Sci.* 67:842-844.
8. Line, J. E., Bailey, J. S., Cox, N. A., Stem, N. J. and Tompkins, T. 1998. Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. *Poultry Sci.* 77: 405-410.

9. Martin, S. A. and Nisbet, D. J. 1990. Effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on fermentation of amino acids; bermudagrass and starch by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 68:2142-2149.
10. Mohan B., Kadirvel, R., Natarajan, A. and Bhaskaran, M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. British Poultry Sci. 37:395-401.
11. Mohan, B., Kadirvel, R., Bhaskaran, M. and Natarajan, A. 1995. Effect of probiotic supplementation on serum/yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. British Poultry Sci. 36:799-803.
12. Pettersson, D., Graham, H. and Amen, P. 1989. Enzyme supplementation of broiler chickens. Ani. Prod. 51:399-404.
13. Roush, W. B. 1981. T159 calculator program for Haugh Unit calculation. Poultry Sci. 60:1086-1088.
14. Russo, J. M. and Heiman, V. 1959. The value of corn fermentation condensed solubles as a growth stimulant for chickens. Poultry Sci. 38:26-30.
15. SAS Institute 1996. SAS/STAT Guide Version 6.12 SAS, Institute Inc., Cary, NC.
16. Takafumi, K., Nobuo, Y. and Akira, N. 2000. Pyriithiamine Resistance gene(PtrA) of *Aspergillus oryzae*: Cloning, Characterization and application as a dominant selectable marker for transformation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64(7):1416-1421.
17. Thayer, R. H. and Jackson, C. D. 1975. Improving phytate phosphorus utilization by poultry with live yeast culture. Anim. Sci. Res. Rep. MP-94. Oklahoma State Univ. Stillwater, OK.
18. Tsang, S. T. L. and Schaible, P. I. 1960. The value of corn fermentation solubles in poultry nutrition. Poultry Sci. 39:257.
19. Wiedmeier, R. D., Arambel, M. J. and Walters, J. L. 1987. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70:2063-2068.
20. 고용균, 황영환. 1999. *Aspergillus oryzae* 균주로 배양한 효모 배양물의 급여가 부로일러의 육성 성적에 미치는 영향, 한국축산학회지. 41(1):15-22.
21. 김상호, 박수영, 유동조, 이상진, 류경선, 이동규. 2003. *Aspergillus oryzae* 배양물의 급여가 육계의 생산성, 장내미생물, 혈청성분 및 계사환경 요인에 미치는 영향. 한국가금학회지 30(3):151-159.
22. 이동규. 2004. 살모넬라 병원 특이 유전자를 이용한 가금티푸스 예방용 황국균 생균제 개발. 농림부 최종보고서.
(접수일자 : 2005. 5. 27. / 채택일자 : 2005. 8. 9.)