

산란기에 항산화물질 급여가 텔로미어 함량 및 난질에 미치는 영향

이민희¹ · 이상호¹ · 김영주² · 고영현² · 장인석² · 문양수² · 최양호³ · 손시환^{2,†}

¹산골농장, ²진주산업대학교 동물생명과학과, ³경상대학교 대학원 응용생명과학부, 농업생명과학연구원, 농생명학부

Effect of Dietary Anti-oxidant Supplementation on Telomere Length and Egg Quality in Laying Hens

M. H. Lee¹, S. H. Lee¹, Y. J. Kim², Y. H. Ko², I. S. Jang², Y. S. Moon², Y.-H. Choi³ and S. H. Sohn^{2,†}

¹Sangol Farm

²Department of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University

³Department of Animal Science, Division of Applied Life Science, and Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University

ABSTRACT There are many kinds of anti-oxidant materials in natural plant resources. The Siberian ginseng and Eucommia are well known as anti-oxidant and medicinal plants. To investigate the effect of their anti-oxidant-like activity on telomere quantity and egg quality, diets containing Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf at 0.5% and 1% were given Hyline Brown commercial laying hens during two periods of age: 20 to 30 wks and 60 to 70 wks. The amount of telomere in lymphocyte, liver, ovary, heart and lung was analyzed by quantitative fluorescence *in situ* hybridization using telomeric DNA probe. Egg weight, albumin height, Haugh unit, egg yolk color, egg shell color, egg shell thickness, egg shell weight and egg shell density were measured to analyze egg quality. The chickens consuming diets Siberian ginseng and Eucommia had higher telomeric DNA in lymphocytes than control chickens in younger layers whereas no significant differences were detected in all target cells analyzed from older layers. Egg quality was increased in younger hens with dietary supplementation as determined by egg weight, albumin height and Haugh unit but there were no effects in older hens. These results imply that dietary supplementation of Siberian ginseng and Eucommia in layers improves bio-activity and egg quality at early laying stage.

(Key words : Siberian ginseng, Eucommia, anti-oxidant, telomere, egg quality, layer)

서 론

우리 나라의 전체 농업 조수익 중 축산업이 차지하는 비중은 30% 정도로 향후 이의 비중은 지속적으로 증가될 것으로 예견하고 있다. 최근 서구 문화의 영향으로 육류 단백질 공급원이 중요시되고, 이에 대한 수요도 비약적으로 증가되고 있는 추세이다. 또한, 국민소득의 증가와 더불어 소비자들의 식품 선호도가 양(量)보다는 질(質) 위주로 급격하게 변화되면서 동물성 식품에 대하여서도 고품질 육류의 선호도가 높아지고 있다. 특히 과도한 동물성 식품 섭취량 증가에 따른 비만과 같은 난치성 질환 발생이 증가됨에 따라 소비자는 질병 예방, 체내 면역성 증진 및 생체 기능 향진을 촉진하는 기능성 축산물을 추구하고 있다.

축산물 생산에 사용되는 기능성 소재로서 다양한 천연 물질이 주목받고 있는데, 특히 특정 천연 식물로부터 생산된 소재는 항산화 작용, 항균 작용뿐만 아니라, 현대 과학에서 아직까지 정확하게 알려지지 않은 많은 약리 작용을 가지고 있다. 이들 천연 식물 소재 중 몇몇 항산화 소재는 닭에서 생산성에 영향을 미치는 복수증 예방, 면역성 증진뿐만 아니라 축산물의 안전성 및 보존성을 개선하는 효과 등이 밝혀지면서 기능성뿐만 아니라 육제품의 품질에 매우 긍정적 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다(Galvin 등, 1997; Lopez-Bote 등, 1998; Hernandez 등, 2004; Rebole 등, 2006; Brenes 등, 2008).

한편, 텔로미어(telomere)라 함은 염색체의 양 말단부로서 세포 분열이 거듭됨에 따라 길이가 짧아지는데, 이는 텔로머

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

레이스(telomerase)의 활성이 결핍되어 나타나는 현상이다. 이러한 텔로미어의 감축 양상이 노화의 지표뿐만 아니라 다양한 생리적 표지로서 많은 연구가 되고 있다(Meeker와 Coffey, 1997; Ulaner와 Giudice, 1997; Cottliar와 Slavutsky, 2001). 그러나 텔로미어의 감소는 세포의 노화에 따른 telomeric DNA의 유실에 의해서 나타나는 것이기는 하나, 이의 감축 정도는 단지 유전적 생리현상에 의해서만 이루어지는 것이 아니고 제반 환경적 요인에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타난다. 이러한 환경 요인들 중 특히 산화적 스트레스가 텔로미어 유실을 가속화 시킴이 밝혀지고 한편으로 항산화제가 이의 유실을 제어한다고 알려져 있다(Saretzki와 von Zglinicki, 1999; von Zglinicki, 2002; Richter와 von Zglinicki, 2007).

본 연구에서는 여러 천연 항산화 소재 중 국내에 널리 자생하고, 싸고 손쉽게 구입 가능한 가시오갈피(Siberian ginseng)와 두충(Eucommia)을 대상으로 이의 첨가 급여가 산란계의 생리활성도 및 난질에 미치는 영향을 고찰하고자 한다. 약용식물로 널리 알려진 가시오갈피에는 엘루테로사이드류(eleutheroside, 리그난 배당체)가 다량 함유되어 있는데, 이는 항 스트레스 작용을 갖고 있어 당뇨 억제 및 항산화제로의 효능을 보고하고 있다. 가시오갈피의 주요 약리 작용으로 기초 대사 능력을 증진시키고, 질병에 대한 면역 및 혈당량을 낮추는 작용이 있는 것으로 가시오갈피 추출물이 간 superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 catalase 등과 같은 항산화 효소의 활성도를 현저히 증가시키고, 간 조직 손상을 방지하는 효과를 보고하였다(Lee 등, 2003). 두충나무에는 rubber, 수지(resin), 리그난 배당체(lignan) 및 혈압 강화 작용이 있는 (+)-pinosresinol-di- β -D-glucoside가 함유되어 있으며, 비타민 C가 차 잎보다도 많은 63 mg/kg 정도가 들어 있다. 두충 잎을 오랫동안 섭취할 경우, 산화적 스트레스로부터 DNA를 보호하는 항산화 작용이 우수하여 질병의 방어 효과가 있음을 보고한 바 있다(Hsieh 와 Yen, 2000). 또한, 가시오갈피와 두충 등 항산화 작용이 있는 천연물에는 체내 저밀도 지단백질(LDL)의 산화를 방지하여 동물체의 건강뿐만 아니라 육체품의 보존성에도 매우 유익한 것으로 발표되었다(Shi 등, 2003). 이와 같이 지금까지 검증된 가시오갈피 및 두충의 항산화 효과를 바탕으로 본 연구에서는 이들 소재의 첨가 급여가 실용 산란계에 있어 생리활성도 및 계란 품질에 미치는 영향을 알아보기로 하여 처리별 혈액 및 각종 장기 조직에서 텔로미어의 함량과 생산된 계란의 난중, 난백고, 호우 유닛, 난각색, 난황색, 난각 두께, 난각 무게 및 난각 밀도를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물 및 실험 설계

산란계에 있어 항산화 사료 첨가제의 영향을 살펴보고자 경남 산청군 소재 산골농장에서 하이라인 브라운 상업용 실용 산란계 360수를 대상으로 본 시험을 실시하였다. 본 시험에 이용된 항산화 사료 첨가제로서 가시오갈피 및 두충 잎을 이용하였고 급여 수준은 사료 급여량 대비 0.5% 및 1%로 제한하였다. 급여기간은 산란 초기부터 산란 피크기까지인 20주령부터 30주령까지, 후기 산란기인 60주령에서부터 70주령까지로 제한하고 30주령 말과 70주령 말 개체의 텔로미어 함량 및 난질을 분석하였다. 본 시험의 시험 설계는 Table 1과 같다.

2. 텔로미어 함량 분석

1) 표본 제작

텔로미어 함량 분석은 혈액, 간, 폐, 심장 및 난소 조직을 대상으로 하였으며, 처리별로 30주령 및 70주령 개체 각 8수씩을 도살하고 상기 각 조직들을 떼어 분석하였다. 채집된 조직들은 D-PBS(Gibco, Invitrogen Corp. Grand Island, N.Y, USA)용액으로 세척한 다음 RPMI 1640(Gibco) 배양액이 들어있는 시험관으로 옮겨 200 \times g에서 10분간 원심분리시켰다. 침전된 세포에 0.9% sodium citrate(Sigma-Aldrich, 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.

백혈구 세포 표본의 제작은 개체의 경정맥으로부터 약 5 mL의 혈액을 채취하여 백혈구만 순수 분리하여 이용하였다. 순수 백혈구의 분리는 손과 류(1999)가 제시한 Ficoll(Amersham Bioscience, Uppsala, Sweden)을 이용한 분리 방법으로 시행하

Table 1. Experimental design of dietary supplementation of Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf on layer

Item	Treatments				
	Contol	Siberian ginseng		Eucommia	
		0.5%	1.0%	0.5%	1.0%
Replication (n)	12	12	12	12	12
No. of hens	72	72	72	72	72

였고, 분리된 세포는 0.06M KCl(Sigma-Aldrich)을 이용하여 실온에서 15분간 저장 처리하였다. 저장 처리된 세포에 methanol과 acetic acid 3:1로 혼합된 고정액을 10방울 정도 첨가한 후 원심분리하고 이후 동일 고정액으로서 3회 정도 반복 처리한 후 슬라이드 표본을 제작하였다.

2) 형광접합보인분석

형광접합보인분석(fluorescence in situ hybridization; FISH) 용 probe 제작을 위하여 (CCCTAA)⁷으로 구성된 42mers 단일 oligomers를 primer로 이용하여 Polymerase Chain Reaction(PCR)을 수행하고, 이의 증폭된 산물을 PCR-DIG Probe Synthesis Kit(Roche, Mannheim, Germany)로서 digoxigenin labeling을 하였다.

본 연구에서 수행한 FISH 방법은 조 등(2005)이 제시한 닭의 초기 배자 및 발생 조직에 대한 telomeric DNA 함량 분석 방법과 동일하게 실시하였다. 이를 간단하게 소개하면 슬라이드 표본을 RNase(Sigma-Aldrich) 처리 후 초자수로 세척하고 에탄올로 탈수 건조시켰다. 이후 Hybridization 용액(13 μ L formamide, 5 μ L hybridization buffer, 2 μ L(100ng/ μ L) chicken telomeric DNA probe; Roche)을 떨어뜨린 후 밀봉하고 85 $^{\circ}$ C에서 5분간 변성(denaturation)시킨 후 38.5 $^{\circ}$ C에서 12시간 이상 접합(hybridization)시켰다. 접합 후 슬라이드를 2 \times SSC로서 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 처리하고 실온의 PN buffer(0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40; Roche)로 세척하였다. 형광 접합 탐지를 위하여 anti-digoxigenin-fluorescein(FITC; Roche)을 처리하고 커버글라스로 덮은 후 38.5 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 슬라이드는 PN buffer로 세척하고 암소에서 건조시켰다. 배경 염색은 propidium iodide solution(PI; Sigma-Aldrich)을 떨어뜨린 후 커버글라스를 덮고 암소에서 건조시킨 후 검경하였다. 형광 접합 발현 양상은 PI와 FITC 파장대의 검용 필터를 부착한 형광현미경(Model AX-70 with WIB filter, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 검경 상은 100배의 대물렌즈 하에서 평균 5개의 간기 상을 한 프레임으로 하여 디지털 카메라(Model DP-70, Olympus, Tokyo, Japan)로 촬영하고, 조직별 20개 이상의 프레임 상을 획득하여 분석에 이용하였다. 저장된 상은 이미지 분석 프로그램(Image analyzer program, MetaMorph, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 핵 대비 telomeric DNA 분포량을 계산하였다.

3. 난질 분석

난질의 분석은 30주령 및 70주령에 산란된 각 150개의 계란을 대상으로 난중, 난백고, 호우 유니트, 난각색, 난황색,

난각 두께, 난각 무게 및 난각 밀도를 QCM+ system(TSS Co., England)으로 측정 조사하였다.

4. 통계 처리

항산화제 급여 처리에 따른 난질 및 텔로미어 함량 분석 결과를 SAS package program(SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)을 이용하여 one-way ANOVA 분석 및 Turkey 다중검정분석 방법으로 처리한 유의성 검증을 실시하였다.

결과 및 고찰

실용 산란계인 하이라인브라운을 대상으로 생리활성 물질로 알려진 가시오갈피 잎과 두충 잎을 20~30주령 및 60~70주령에 사료 내 첨가 급여하고 30주령 및 70주령에 급여 개체별 각 조직의 텔로미어 함유율을 분석하였다. 텔로미어 프로브를 이용한 형광접합보인법(FISH)으로 닭 백혈구의 핵 내 텔로미어의 분포 양상을 관찰한 바 이의 대표적 양상을 Fig. 1에 제시하였다. 본 관찰 양상을 이용하여 생리활성 물질 첨가 급여 수준별 백혈구 및 각종 조직에 대한 텔로미어의 상대적 함량을 image analyzer program으로 분석하고, 이들의 값을 Table 2와 3에 제시하였다.

Table 2는 30주령시 가시오갈피와 두충의 급여 수준별 각 조직의 텔로미어 함량을 비교 분석한 것으로 증식성 세포인

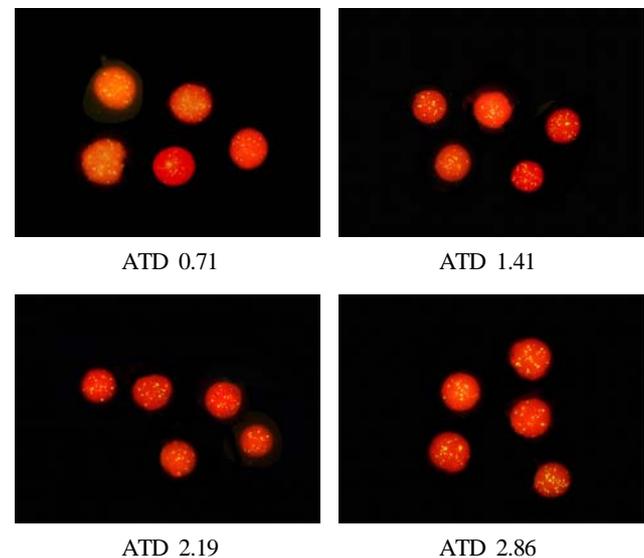


Fig. 1. The representative telomere distribution patterns of inter-phase nuclei of lymphocytes in layer by FISH using telomeric DNA probe; ATD (Amount of Telomeric DNA).

Table 2. Effects of dietary supplementation of Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf on the amount of telomeric DNA in 30 wks layer

Samples	Control	0.5% Siberian ginseng	1% Siberian ginseng	0.5% Eucommia	1% Eucommia
Blood	1.82 ± 0.06 ^b	2.12 ± 0.04 ^a	2.11 ± 0.04 ^a	2.16 ± 0.04 ^a	2.15 ± 0.04 ^a
Liver	1.71 ± 0.06	1.70 ± 0.04	1.77 ± 0.04	1.59 ± 0.07	1.60 ± 0.06
Ovary	1.95 ± 0.06 ^{ab}	1.79 ± 0.04 ^{bc}	2.00 ± 0.05 ^a	1.74 ± 0.05 ^c	1.65 ± 0.04 ^c
Heart	1.82 ± 0.04	1.78 ± 0.24	1.85 ± 0.07	1.66 ± 0.04	1.68 ± 0.04
Lung	1.45 ± 0.04	1.53 ± 0.03	1.43 ± 0.04	1.52 ± 0.04	1.52 ± 0.05

^{a-d} Values (Mean ± SE) with different superscripts within same row significantly differ at $P < 0.01$.

Table 3. Effects of dietary supplementation of Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf on the amount of telomeric DNA in 70 wks layer

Samples	Control	0.5% Siberian ginseng	1% Siberian ginseng	0.5% Eucommia	1% Eucommia
Blood	1.39 ± 0.06	1.44 ± 0.08	1.45 ± 0.06	1.45 ± 0.06	1.47 ± 0.08
Liver	1.31 ± 0.03	1.35 ± 0.04	1.35 ± 0.07	1.37 ± 0.08	1.35 ± 0.05
Ovary	1.33 ± 0.05	1.35 ± 0.05	1.34 ± 0.04	1.29 ± 0.05	1.32 ± 0.07
Heart	1.34 ± 0.04	1.33 ± 0.06	1.35 ± 0.06	1.32 ± 0.07	1.28 ± 0.03
Lung	1.27 ± 0.07	1.34 ± 0.06	1.29 ± 0.03	1.28 ± 0.07	1.31 ± 0.05

백혈구의 핵 내 텔로미어의 함유율은 가시오갈피 및 두충 급여 처리구 모두가 이를 첨가 급여하지 않은 대조구에 비해 현저히 높은 텔로미어 함유율을 보였다. 반면, 비 증식성 세포인 간, 심장, 폐에 있어서는 처리구간 차이가 없었으며, 생식세포인 난소는 두충의 처리구가 가시오갈피 및 대조구에 비해 텔로미어 함량이 유의적으로 낮게 나타났다. 한편, 백혈구에 있어 생리활성 물질간(가시오갈피:두충) 텔로미어 함유율의 차이나 급여 농도간(0.5%:1%) 차이는 없는 것으로 나타났다. Table 3은 동일 물질 첨가 급여 수준별 70주령의 각 조직별 텔로미어 함량을 분석 제시한 것으로 산란 초기인 30주령과 달리 백혈구, 간, 심장, 폐, 난소 모든 조직에 있어 급여 처리구간 텔로미어 함유율의 차이가 없는 것으로 나타났다. 텔로미어라 함은 진행 세포의 염색체 말단부에 TTAGGG 반복 DNA 염기 서열과 특정 단백질로 구성되어 있는 DNA-단백질 복합체이다. 세포 분열이 진행함에 따라 텔로미어의 길이는 감소되고 일정 길이 이하가 되면 더 이상 분열을 할 수 없게 되어 세포 사망(apoptosis)이 유기된다. 정상 세포의 경우, 1 세포 주기당 약 50~200 bp의 telomeric DNA의 유실이 있으므로 알려져 있다(Greider와 Blackburn, 1985). 텔로미어의 역할은 염색체 안정성에 주된 작용을 하는 것으로 세

포의 노화나 암의 발생 및 진행과 깊은 관련이 있음을 보고하고 있다(Ahmed와 Tollefsbol, 2001; Cottliar와 Slavutsky, 2001; Sohn 등, 2002; Deng와 Chang, 2007). 따라서 노화와 관련하여 세포적 관점에서 텔로미어 길이 및 텔로머레이스 활성도에 대한 연구들이 매우 활발히 진행되고 있으며, 개체의 생리활성도와 텔로미어 길이간의 상관성에 관한 연구 또한 관심 있게 진행되고 있다(Frenck 등, 1998; Jeanclous 등, 2000; Benetos 등, 2001; Okuda 등, 2002). 텔로미어의 감축은 세포 분열시 일어나는 DNA의 말단 복제 유실(end-replication problem)이 주된 요인으로 알려져 있다. 그러나 최근 이러한 유전적 요인 이외 여러 후생적 요인들이 텔로미어 길이의 감축에 많은 영향을 미치는 것으로 보고되고 있는데 텔로미어를 구성하는 G-rich DNA가 산화적 스트레스(Henle 등, 1999)나 알킬화(Petersen 등, 1998) 또는 UV 조사(Oikawa 등, 2001) 등에 손상을 입게 됨에 따라 민감하게 감축이 촉진된다는 것이다. 이들 중 세포의 산화적 스트레스(oxidative stress)가 텔로미어 감축을 촉진시키는 가장 큰 요인으로 알려져 있다(Saretzki와 von Zglinicki, 1999; von Zglinicki, 2000; Kurz 등, 2004). Richter와 von Zglinicki(2007)는 세포 내 산화적 스트레스 수준과 텔로미어의 감소율간에 고도의 상관 관계($r^2 =$

0.812)를 밝히므로 텔로미어 감소율의 결정인자로서 세포 내 산화적 스트레스 수준이 결정적 요인임을 제시하였다. 반면, 항산화제는 산화적 스트레스가 증가함에 따라 유지되는 텔로미어의 감축 현상을 완화시키는 역할을 한다고 알려져 있다(Xu 등, 2000; Bar-Or 등, 2001; Haendeler 등, 2004). 예로서 ascorbic acid(Furumoto 등, 1998)나 α -phenyl- τ -butylnitrone(von Zglinicki 등, 2000) 및 N-acetylcystein(Haendeler 등, 2004)을 상피세포 및 섬유아세포 배양에 첨가함으로써 세포의 복제 주기가 길어지고 텔로미어의 감소가 지연됨을 확인하였다. 세포 내 산화적 스트레스가 텔로미어 감축에 직접적 관련이 있으며, 항산화제는 이의 감축을 억제 또는 완화시키는 작용을 근거로 본 실험에서는 *in vivo*상 항산화제 첨가 급여가 생체 세포 내 텔로미어 감축에 미치는 영향을 살펴보았다. 산란기에 있어 육성기 이후 산란 초기 시점에서 소량의 가시오갈피와 두충의 첨가 급여가 백혈구의 텔로미어 함량을 상대적으로 높게 하였는데, 이는 항산화제 첨가구가 대조구에 비해 텔로미어 감소율을 보다 억제 또는 완화를 시사하는 것으로 항산화 물질의 급여가 개체의 면역 능력을 증진시켜 이들의 생리 활성도 및 기능을 향상시킨다는 것을 강력히 뒷받침하는 증거라 사료된다. 그러나 이러한 효과가 노화 시점인 70주령에서는 거의 나타나지 않음으로 항산화제의 산화적 스트레스 억제 효과가 연령에 따라 차이가 있음을 시사한다.

한편, 20주령에서부터 30주령까지 가시오갈피와 두충 잎을 사료 내 첨가 급여하여 30주령때 산란한 계란의 난질을 분석하여 이의 결과를 Table 4에 제시하였다. 분석 결과, 난중, 난백고, 호우 유니트에 있어 생리활성 물질 급여 처리구가 무 처리구에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였다. 반면 난각 두께는 무처리구가 생리활성 물질 첨가 급여구에 비해

높게 나타났으며, 난각색, 난황색, 난각 무게 및 난각 밀도는 처리구별 차이가 없었다. 또한, 생리활성 물질 급여 농도 간 (0.5%:1%) 난질의 차이는 없는 것으로 나타났고, 가시오갈피와 두충 간에도 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 소량의 천연 생리활성 물질 첨가 급여가 생체 기능 향상을 촉진시켜 난질에 매우 긍정적 효과를 유발한다는 것이다. 반면 후기 시점인 60~70주령시 동일 급여 처리 후 70주령때 산란된 계란의 난질을 분석하고 이의 결과를 Table 5에 제시하였다. 분석 결과, 난각 두께를 제외한 난중, 난백고, 호우 유니트, 난각색, 난황색, 난각 무게 및 난각 밀도간에는 처리구별 차이가 없었다. 난각 두께는 두충 0.5% 첨가구만이 타 처리구에 비해 유의적으로 낮은 양상을 보였다. 이는 산란 후기 시점에 본 생리활성 물질의 첨가가 생리활성도 뿐만 아니라 산란하는 계란의 난질에도 큰 영향을 미치지 않음을 의미하는 것이다.

항산화 물질로 알려진 다양한 천연 생리활성 식물성 소재들이 소개되고 있고, 이를 이용한 동물 사료 첨가 급여 시험들이 많이 보고되고 있다. 천연 생리활성 식물성 소재에 함유된 polyphenol 계열은 생체에서 우수한 항산화 기능을 나타내는데, 비타민 E나 C에 비해 수 배 이상의 항산화력을 나타낸다. 이러한 천연 생리활성 물질의 급여는 육계에 있어 복수증 예방, 면역력의 증강 및 고기의 안전성 및 보존성 향상 등과 같이 기능성뿐만 아니라 육제품의 품질에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 대표적인 사료 첨가 천연 항산화 물질로서 포도씨끼(Goni 등, 2007; Brenes 등, 2008), 해바라기 씨앗(Galvin 등, 1997; Rebole 등, 2006; Rama Rao 등, 2006), 올리브유(O'Neill 등, 1998), 로즈마리(Lopez-Bote 등, 1998) 등이 소개되고 있고, 이의 첨가 급여가 육계에 있어 지방산의

Table 4. Effects of dietary supplementation of Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf on egg quality in 30 wks layer

Treatments	Control	0.5% Siberian ginseng	1% Siberian ginseng	0.5% Eucommia	1% Eucommia
Egg weight	59.32 ± 0.72 ^b	61.90 ± 1.15 ^{ab}	62.03 ± 0.84 ^{ab}	63.03 ± 0.90 ^a	60.69 ± 0.78 ^{ab}
Albumin height	9.18 ± 0.27 ^b	10.44 ± 0.28 ^a	9.63 ± 0.33 ^{ab}	10.51 ± 0.25 ^a	9.46 ± 0.29 ^{ab}
Haugh unit	95.07 ± 1.31 ^b	100.42 ± 1.22 ^a	96.72 ± 1.41 ^{ab}	100.46 ± 1.07 ^a	95.95 ± 1.36 ^{ab}
Egg yolk color	9.12 ± 0.08	9.40 ± 0.13	9.38 ± 0.11	9.28 ± 0.10	9.27 ± 0.09
Egg shell color	17.12 ± 0.62 ^{ab}	16.36 ± 0.71 ^b	18.67 ± 0.82 ^{ab}	19.0 ± 0.71 ^a	18.95 ± 0.45 ^a
Egg shell thickness	0.45 ± 0.003 ^a	0.43 ± 0.006 ^{ab}	0.41 ± 0.006 ^{cd}	0.40 ± 0.005 ^d	0.42 ± 0.005 ^{bc}
Egg shell weight	7.67 ± 0.08	7.75 ± 0.10	7.64 ± 0.10	7.90 ± 0.12	7.78 ± 0.10
Egg shell density	108.0 ± 0.73	106.16 ± 0.87	104.44 ± 1.13	106.94 ± 1.23	107.92 ± 1.15

^{a-d} Values (Mean ± SE) with different superscripts within same row significantly differ at $P < 0.05$ and $P < 0.01$.

Table 5. Effectsof dietary supplementation of Siberian ginseng leaf and Eucommia leaf on egg quality in 70 wks layer

Treatments	Control	0.5% Siberian ginseng	1% Siberian ginseng	0.5% Eucommia	1% Eucommia
Egg weight	62.94 ± 0.72	65.61 ± 1.15	64.68 ± 0.84	65.47 ± 0.90	62.62 ± 0.78
Albumin height	9.07 ± 0.27	9.42 ± 0.28	8.92 ± 0.33	9.65 ± 0.25	9.54 ± 0.29
Haugh unit	93.21 ± 1.31	94.01 ± 1.22	91.0 ± 1.41	95.50 ± 1.07	95.29 ± 1.36
Egg yolk color	9.51 ± 0.08	9.79 ± 0.13	9.77 ± 0.11	9.78 ± 0.10	9.74 ± 0.09
Egg shell color	33.54 ± 0.62	33.15 ± 0.71	31.05 ± 0.82	33.47 ± 0.71	31.91 ± 0.45
Egg shell thickness	0.39 ± 0.003 ^a	0.39 ± 0.006 ^{ab}	0.39 ± 0.006 ^{ab}	0.37 ± 0.005 ^b	0.40 ± 0.005 ^a
Egg shell weight	8.17 ± 0.08	8.27 ± 0.10	8.14 ± 0.10	8.45 ± 0.12	8.33 ± 0.10
Egg shell density	110.62. ± 0.73	108.93 ± 0.87	108.34 ± 1.13	111.44 ± 1.23	113.26 ± 1.15

^{ab} Values (Mean ± SE) with different superscripts within same row significantly differ at $P < 0.05$.

산화 방지와 더불어 고기의 보존성에 탁월한 효과를 보고하고 있다. 본 연구는 가시오갈피 및 두충과 같은 약용 천연식물 자원을 산란계의 항산화 사료 첨가제로서 생산성에 미치는 효과를 살펴보고자 하였다. 가시오갈피와 두충과 같은 약초류에 함유된 proanthocyanidin은 polyphenol 계열의 항산화제로서 생체 내에서 매우 우수한 항산화 기능을 나타내고(Uchida, 1991), 항산화력 이외에 식물성 polyphenol 성분은 체내 염증이나 알러지 반응에 관여하는 histamine 방출을 억제하는 것으로 알려져 있다(Amella 등, 1985). 가시오갈피의 성분 중 eleutheroside는 탁월한 항 스트레스 작용을 갖고 있고 항산화 효소의 활성도를 현저히 증가시키는 항산화 방어작용뿐만 아니라 간 조직 손상을 방지하는 작용을 보고한 바 있다(Lee 등, 2003). 두충나무에는 혈압 강하 작용제로 중요한 배당체 (+)-Pinoresinol-di-β-D-glucoside가 함유되어 있으며, 비타민 C가 다량 함유되어 있어 두충잎을 오랫동안 섭취할 경우 산화적 스트레스로부터 DNA를 보호하는 항산화 작용이 우수하여 질병의 방어 효과가 두드러짐을 보고하였다(Hsieh와 Yen, 2000). 또한, 이러한 천연물에는 체내 저밀도 지단백질(LDL)의 산화를 방지하여 고기의 보존성에도 매우 유익한 것으로 발표되었다(Shi 등, 2003). 본 결과에서 나타난 초기 난질 개선 효과는 산란계에 있어 소량의 천연 생리활성 물질 첨가 급여가 생체 기능 향상뿐만 아니라 내분비적 생리활성도를 촉진시켜 난형성에 매우 바람직한 효과를 유발한다는 것을 입증하는 것이다. 또한, 천연 생리활성 물질 급여가 고기의 보존성을 향상시킨다는 보고와 더불어 난 보존성에도 동일한 개선 효과가 있는 것으로 보여진다. 그러나 산란 후기 시점인 70주령의 경우 항산화 물질의 첨가 급여가 개체의 생리활성도에 영향을 미치지 못함으로써 더불어 난

질의 개선 효과도 없는 것으로 생각된다.

이상의 결과로부터 산란계에 있어 육성기 이후 산란 개시 시점에서 소량의 가시오갈피와 두충의 첨가는 체내에 미치는 독성이 없이 개체의 생리활성도의 증진과 더불어 난형성에 매우 긍정적 영향을 미쳐 산란된 계란의 난질을 개선시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

적 요

천연식물자원들 중에 항산화 물질로 알려진 다양한 소재들이 소개되고 있다. 이들 중 가시오갈피와 두충과 같은 소재는 항산화 효과뿐만 아니라 약용으로서도 널리 입증된 천연식물성 소재이다. 따라서 본 연구에서는 실용 산란계에 이들 소재의 첨가 급여가 개체의 생리활성도 및 계란 품질에 미치는 영향을 알아보고자 텔로미어의 함량을 비교 분석하고, 생산된 계란의 난질을 조사하였다. 시험 분석은 하이라인 브라운 상업용 실용 산란계 360수를 이용하여 가시오갈피 및 두충을 각각 사료 급여량 대비 0.5%와 1%를 첨가하였다. 급여 시기는 초기 산란기(20~30주령) 및 후기 산란기(60~70주령)로 제한하고, 30주령 말과 70주령 말 개체의 혈액 및 각종 조직들의 텔로미어 함유율과 생산한 계란의 품질을 양적형광점합보인법(Q-FISH) 및 난질 분석기로 분석하였다. 가시오갈피 및 두충 급여에 따른 각 조직별 텔로미어 함량을 비교 분석한 바 산란 초기에 증식성 세포인 백혈구 내 텔로미어 함유율은 모든 첨가 급여구가 무 첨가구에 비해 현저히 높은 함량을 보이고 비 증식성 세포에 있어서는 처리구별 차이가 없었다. 그러나 산란 후기 시 첨가 급여에

따른 모든 조직들의 텔로미어 함량 차이는 없는 것으로 나타났다. 가시오갈피 및 두충의 첨가 급여가 난질에 미치는 영향을 살펴본 바 산란 초기에 난중, 난백고, 호우 유니트는 첨가 급여 처리구가 무처리구에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였고, 난각 두께, 난각색, 난황색, 난각 무게 및 난각 밀도는 처리구별 차이가 없었다. 반면 산란 후기에서는 급여 처리간 난질에 미치는 효과는 없는 것으로 나타났다. 이는 항산화 물질의 첨가가 성장기 개체의 생리 활성도 및 생체 기능을 향상 시킨다는 것을 강력히 뒷받침하는 증거로서 산란기에 있어 산란 초기에 소량의 가시오갈피와 두충의 첨가는 체내에 미치는 독성 없이 개체의 기능성 증가와 더불어 난 형성에 매우 긍정적 영향을 미치는 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 농림부 농림기술개발사업(과제번호 106118-3)의 지원에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Ahmed A, Tollefsbol T 2001 Telomeres and telomerase: basic science implications for aging. *J Am Geriatr Soc* 49(8):1105-1109.
- Amella M, Bronner C, Briancon F, Haag M, Anton R, Landry Y 1985 Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and biflavonoids. *Planta Med* 1:16-20.
- Bar-Or D, Thomas GW, Rael LT, Lau EP, Winkler JV 2001 Asp-Ala-His-Lys (DAHK) inhibits copper-induced oxidative DNA double strand breaks and telomere shortening. *Biochem Biophys Res Commun* 282(1):356-360.
- Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J, Labat C, Bean K, Aviv A 2001 Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 37(2):381-385.
- Brenes A, Viveros A, Goñi I, Centeno C, Sáyago-Ayerdy SG, Arijia I, Saura-Calixto F 2008 Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poult Sci* 87(2):307-316.
- Cottliar AS, Slavutsky IR 2001 Telomeres and telomerase activity: their role in aging and in neoplastic development. *Medicina* 61:335-342.
- Deng Y, Chang S 2007 Role of telomeres and telomerase in genomic instability, senescence and cancer. *Lab Invest* 87(11):1071-1076.
- Frenck RW Jr, Blackburn EH, Shannon KM 1998 The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. *Proc Natl Acad Sci* 95(10):5607-10.
- Furumoto K, Inoue E, Nagao N, Hiyama E, Miwa N 1998 Age-dependent telomere shortening is slowed down by enrichment of intracellular vitamin C via suppression of oxidative stress. *Life Sci* 63(11):935-948.
- Galvin K, Morrissey PA, Buckley DJ 1997 Influence of dietary vitamin E and oxidised sunflower oil on the storage stability of cooked chicken muscle. *Br Poult Sci* 38(5):499-504.
- Goñi I, Brenes A, Centeno C, Viveros A, Saura-Calixto F, Rebolé A, Arijia I, Estevez R 2007 Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens. *Poult Sci* 86(3):508-516.
- Greider CW, Blackburn EH 1985 Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 43:405-413.
- Haendeler J, Hoffmann J, Diehl JF, Vasa M, Spyridopoulos I, Zeiher AM, Dimmeler S 2004 Antioxidants inhibit nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells. *Circ Res* 94(6):768-775.
- Henle ES, Han Z, Tang N, Rai P, Luo Y, Linn S 1999 Sequence-specific DNA cleavage by Fe²⁺-mediated fenton reactions has possible biological implications. *J Biol Chem* 274(2):962-971.
- Hernández F, Madrid J, García V, Orengo J, Megías MD 2004 Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult Sci* 83(2):169-174.
- Hsieh CL, Yen GC 2000 Antioxidant actions of du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) toward oxidative damage in biomolecules. *Life Sci* 66(15):1387-1400.
- Jeanclous E, Schork NJ, Kyvik KO, Kimura M, Skurnick JH, Aviv A 2000 Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. *Hypertension* 36(2):195-200.
- Kurz DJ, Decary S, Hong Y, Trivier E, Akhmedov A, Erusa-

- limsky JD 2004 Chronic oxidative stress compromises telomere integrity and accelerates the onset of senescence in human endothelial cells. *J Cell Sci* 117:2417-2426.
- Lee SE, Shin HT, Hwang HJ, Kim JH 2003 Antioxidant activity of extracts from *Alpinia katsumadai* seed. *Phytother Res* 7(9):1041-1047.
- Lopez-Bote CJ, Gray JI, Gomaa EA, Flegel CJ 1998 Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *Br Poult Sci* 39(2):235-240.
- Meeker AK, Coffey DS 1997 Telomerase: a promising marker of biological immortality of germ, stem, and cancer cells. *Biochemistry* 62(11):1323-1331.
- O'Neill LM, Galvin K, Morrissey PA, Buckley DJ 1998 Comparison of effects of dietary olive oil, tallow and vitamin E on the quality of broiler meat and meat products. *Br Poult Sci* 39(3):365-371.
- Oikawa S, Tada-Oikawa S, Kawanishi S 2001 Site-specific DNA damage at the GGG sequence by UVA involves acceleration of telomere shortening. *Biochemistry* 40(15):4763-4768.
- Okuda K, Bardeguet A, Gardner JP, Rodriguez P, Ganesh V, Kimura M, Skumick J, Awad G, Aviv A 2002 Telomere length in the newborn. *Pediatr Res* 52(3):377-381.
- Petersen S, Saretzki G, von Zglinicki T 1998 Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res* 239(1):152-160.
- Rama Rao SV, Raju MV, Panda AK, Reddy MR 2006 Sunflower seed meal as a substitute for soybean meal in commercial broiler chicken diets. *Br Poult Sci* 47(5):592-598.
- Rebolé A, Rodríguez ML, Ortiz LT, Alzueta C, Centeno C, Viveros A, Brenes A, Arijia I 2006 Effect of dietary high-oleic acid sunflower seed, palm oil and vitamin E supplementation on broiler performance, fatty acid composition and oxidation susceptibility of meat. *Br Poult Sci* 47(5):581-591.
- Richter T, von Zglinicki T 2007 A continuous correlation between oxidative stress and telomere shortening in fibroblasts. *Exp Gerontol* 42(11):1039-1042.
- Saretzki G, von Zglinicki T 1999 Replicative senescence as a model of aging: the role of oxidative stress and telomere shortening. *Z Gerontol Geriatr* 32(2):69-75.
- Shi Y, Wang W, Mo J, Du L, Yao S, Tang W 2003 Interactions of growth inhibitory factor with hydroxyl and superoxide radicals. *Biometals* 16(3):383-389.
- Sohn SH, Multani AS, Gugnani PK, Pathak S 2002 Telomere erosion-induced mitotic catastrophe in continuously grown Chinese hamster Don cells. *Exptl Cell Res* 279(2):271-276.
- Uchida Y 1991 Growth-inhibitory factor. *No To Shinkei* 43(12):1114-1120.
- Ulaner GA, Giudice LC 1997 Developmental regulation of telomerase activity in human fetal tissues during gestation. *Mol Hum Reprod* 3(9):769-773.
- von Zglinicki T 2000 Role of oxidative stress in telomere length regulation and replicative senescence. *Ann N Y Acad Sci* 908:99-110.
- von Zglinicki T 2002 Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27(7):339-344.
- Xu D, Neville R, Finkel T 2000 Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. *FEBS Lett* 470(1):20-24.
- 손시환 류은경 1999 Ficoll을 이용한 닭 염색체 분리 기법에 관한 연구. *진주산업대 농업기술연구소보* 12:131-140.
- 조은정 최철환 손시환 2005 닭의 발생 단계별 세포내 telomere의 양적 분포양상과 telomerase 활성도 분석. *한국동물자원과학회지* 47(2):187-194.
- (접수: 2008. 08. 27, 수정: 2008. 09. 12, 채택: 2008. 09. 15)