칼슘 및 칼슘대사 관련 생리활성물질의 첨가가 산란종계의 후기 난각질 및 종란 생산성에 미치는 영향

김은집 · 안병기 · 강창원
건국대학교 동물자원연구센터

Abstract

Eggshell quality is one of the most important factors that influence hatchability. The porosity and overall quality of eggshell have a very significant effect on exchange of vital gas (carbon dioxide and oxygen) between the developing embryo and the air during incubation. Thin-shelled eggs showed the greater weight loss than do thick-shelled eggs, causing the chick to have difficulty in hatching. Thin-shelled eggs also have a much greater chance of being cracked during handling. On the other hand, thick-shelled eggs showed the higher hatchability as a result of greater fertility and lower intermediate and late embryonic mortalities. Even a small percentage improvement in the eggshell quality could result in significant saving to the breeder industry in an increasingly competitive environment.

Many factors including nutrition, management practices, environmental conditions and breeding are known to be related to eggshell quality. In this review brief accounts of each factor associated with eggshell quality and hatchability were provided. We conducted three experiments to investigate the effects of dietary Ca, vitamin D3 metabolite and some bioactive materials on eggshell quality and hatching egg production.

The results of our studies showed that relatively high levels of dietary Ca in combination with 25-hydroxycholecalciferol had beneficial effects on improving eggshell quality and reproductive performances in aged egg-type breeder hens. It was also suggested that the proper use of some feed additives such as isoflavon and chitosan might provide means of improving eggshell quality and reproductive performances in aged egg-type breeder hens.

Key words : Eggshell quality, hatching egg production, 25-hydroxycholecalciferol, bioactive materials, aged egg-type breeder hens

Ⅰ. 서 론

종계에서 생산되는 종란의 난각질은 부화율에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 배아발달 중에 이산화탄소와 산소의 교환은 난각두께와 유공성(porosity)에 의해 조절되며, 난각두께는 발생 중의 수분 손실에 지대한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 난각이 얇은 계란은 취급시 쉽게 깨어지기 때문에 종란으로서의 가치를 저하시킬 뿐 아니라 난각이 두꺼운 종란에 비해 수분 손실이 더 높고 부화율을 저하시키는 주요 원인이 된다.

Roque와 Soares (1994)는 육용종계를 공시한 연구에서 난각이 얇은 종란(thined-shell egg)에 비하여 난각이 두꺼운 종란(thicked-shell egg)에서 부화율이 유의하게 높았다는 결과를 보고하였다.

난각 상태는 계란의 주요한 외관적 품질 항목으로, 난각질(구성성분 및 구조적 강도)의 강약에 의

해 직접적으로 난각의 손상 여부가 결정된다. 난각 손상은 생산자에게도 큰 손실을 입히는데(Austic 과 Nesheim, 1990 ; Hamilton 등, 1979), 생산된 계란의 7.77 %가 이미 계사 내에서 파손되며, 집란 및 운반과정에서 생기는 난각의 손상을 포함하면 총 생산량의 14.14 %에 달하는 것으로 알려져 있으며(Roland, 1977), 계군의 노화와 더운 날씨가 난각 손상의 주 요인이 된다고 하였다(McLoughlin 과 Soares, 1976).

지난 수십 년간 난각질에 관련된 다수의 연구가 수행되었고 난각질 저하를 막기 위한 다양한 기술이 개발되었지만, 난각질의 저하는 여전히 채란업에 큰 피해를 미치는 요인이다(Roland, 1988). 계란의 난각질에 영향을 미치는 인자는 매우 다양한데, 여기에는 계통, 주령, 영양, 질병, 사육관리, 수질, 사양조건, 온도, 스트레스 등이 포함된다. 계통이나 주령에 의한 영향을 고려하면 유전적 인자에 의한 영향이 매우 큼을 알 수 있는데(Kang 등, 1996), 사양관리, 영양 및 질병요인 역시 난각질을 좌우하는 중요한 환경적 인자이다(Roland, 1988). 보통은 이들 요인 중 다수가 복합적으로 문제를 유발하며, 이러한 경우 난각질 저하에 대한 원인 진단이 어려워진다.

본 고에서는 후기 난각질 및 종란 생산성에 영향을 미치는 영양적 요인을 포함한 다양한 인자들에 대해 현재까지 알려진 연구 자료들을 소개하고 더불어 본 연구실에서 수행했던 일련의 연구결과들을 언급할 예정이다.

Ⅱ. 난각질에 영향을 미치는 요인

(1) 나이와 유전적 요인에 의한 영향

난각질은 닭의 주령 및 계통 그리고 기타 유전적 요인에 의한 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Hamilton 등, 1979). 일반적으로 난각질은 주령이 증가함에 따라 저하되는데(Garlich 등, 1984), 주령의 증가에 의한 난각질 저하는 장내에서의 Ca 흡수 감소와 더불어 난중 역시 증가하기 때문으로 십이지장에서의 Ca 흡수 감소와 동반되어 난각 비율이나 난각두께 역시 감소한다(Al-Batshan 등, 1994). Abe 등(1982)은 노계에서 파란 및 연란이 증가하는 것은 $1,25(OH)_2D_3$의 농도 저하와 신장 내 25-hydroxycholecalciferol-1-α-hydroxylase의 활성 저하가 관련이 있다고 하였다.

Leeson 등(1997)은 닭의 계통별로 난중 및 난각질의 차이가 인정된다고 하였고, Shafey 등(1990) 역시 Ca 요구량에서 유전적인 차이가 존재하기 때문에 동일한 사료를 급여했을 때 난각질이 달라진다고 하였다. Leghorn은 선발에 의해 thick shell line과 thin shell line을 발전시켜 왔는데, thick shell line에서 혈중 Ca 농도가 더 높고 분으로의 배설량은 낮다는 결과(Clagett 등, 1977)를 고려하면 Ca 대사에 있어서 계통간의 차이가 있음을 알 수 있다(McDonald와 Beilharz, 1962).

(2) 사료내 Ca의 공급 수준에 의한 영향

난각질에 가장 큰 영향을 미치는 영양적 요인은 Ca를 들 수 있다(Roland, 1986). 일반적으로 사료내 Ca가 부족하면 산란율이 저하되고 난각이 얇아지는 문제가 발생하며(Bar 등, 2002), 사료내 Ca를 적정 수준까지 증가시킬 때 난각질이 유의하게 개선되었다(Mehring과 Titus, 1964; Walter와 Aitken, 1962). 역으로 사료내 Ca 수준이 너무 높으면 섭취량을 감소시킴으로써 난각질과 생산성에 부정적인 영향을 미칠 수 있다(Hurwitz와 Bonstein, 1966 ; Ousterhout, 1980).

Jackson 등(1987)은 Ca 수준을 3.0 %에서 9.0 %까지 1.5 %씩 증가시킨 실험사료를 급여했을 때 전 산란기간의 평균 난각 파괴강도가 유의하게 증가하였다고 보고하였다. Clunies 등(1992) 역시 42주령의 백색 산란계를 공시하여 Ca 수준을 2.5 %에서 4.5 %까지 달리한 실험사료를 급여한 연구에서 Ca 수준의 증가와 더불어 난각무게와 난각내 Ca 함량이 유의하게 증가하였으며, 이상난각(shell deformation)의 비율은 유의하게 감소하는 결과를

관찰하였다.

다양한 계통의 공시계를 이용하여 수행된 최근의 연구에서 Bar 등(2002)은 사료내 Ca 수준을 2.4~2.5 %에서 3.6~4.0 %로 증가시켰을 때 난각무게와 난각두께가 개선되었고, 5.0 % 수준까지 증가시켜도 생산성에 영향을 미치지 않으면서 난각무게와 난각두께가 계속적으로 증가하는 결과를 관찰하였다.

산란계에서 적정 Ca 수준에 대한 연구는 산란능력의 향상과 더불어 점차 높아지는 경향을 나타내고 있다. NRC(1962)의 Ca 권장수준은 2.25 %로 매우 낮은 편이었으나, 이후 개정판(NRC, 1966 ; NRC, 1971)에서는 적정 Ca 권장량을 2.75 % 수준으로 다소 높게 책정하였다.

1975년부터 1985년까지 수행된 연구결과를 정리한 자료에서 백색 Leghorn 계통에서의 Ca 요구량은 4.1 %에 근접하며, 갈색계통에서는 이보다 낮을 것이라고 보고되었다(Roland, 1986). Roush 등(1986) 역시 Ca 수준을 2.5 %부터 5.0 %까지 조절한 실험사료를 급여했을 때 최적의 난각비율을 위한 Ca 요구량이 4.75 %이었다는 결과를 보고하였다. Keshavarz (2000) 및 Bar 등(2002)에 의해 수행된 최근의 연구에서도 난각질 개선을 위해서는 4.5 % 내외의 상당히 높은 수준의 Ca를 공급할 것을 제시하고 있다. 대조적으로 Leeson 등(1993)은 갈색계에서 Ca 수준이 3.4 % 이하라도 생산성이나 난각질에 별 문제가 없다고 하였다.

가장 최근의 NRC 개정판(NRC, 1994)에서도 산란계의 Ca 요구량을 3.3 % 정도를 권장함으로써 상기의 연구 결과와는 사료내 Ca 수준에서 상당한 차이를 보이고 있다.

한국사양표준(2002)에서도 산란후기의 Ca 요구량을 3.8 % 수준으로 NRC(1994)보다 더 높은 수준을 권장하고 있다. 산란계에서 적정 사료내 Ca 수준에 대해 다양한 결과가 나타난 이유로는 실험에 이용된 공시계의 계통, 주령 및 Ca 공급원 및 입자도, 사양환경 등이 상이했기 때문으로 사료된다.

(3) 사료내 타 광물질에 의한 영향

Ca 외에 난각질에 영향을 미치는 인자로는 P와 비타민 D_3를 들 수 있다. Miles 등(1983)은 사료내 총 P 수준을 0.17 %로부터 1.50 %까지 증가시켰을 때 0.50 % 이상 처리구에서 난각질이 저하되었다고 하였다. Jackson 등(1987)은 비피틴태인(NPP) 수준을 0.65 %에서 0.25 %로 감소시킬 때 산란율 및 난중은 감소하였지만, 난각강도는 유의한 증가를 보였다고 하였다.

갈색계의 사료내 유효인(AP) 수준을 0.25, 0.30, 0.35 및 0.40 %로 조절하고 난각이상을 지표로 난각질을 조사하였을 때 AP 수준이 가장 낮거나 높은 수준인 0.25 % 및 0.40 % 처리구에서 난각이상이 유의한 증가를 나타내었다(Leeson 등, 1993).

사료내 P 수준이 지나치게 높으면 난각질이 저하되고 혈액 산-염기 균형 지표가 낮아지는데, 이는 Ca 배설이 증가하기 때문이라고 설명할 수 있다(Keshavarz와 Austic, 1990). 선행연구 결과를 살펴보면 산란피크 경과 후에는 P의 공급 수준을 낮추어 주는 것이 난각질 강화 및 Ca 대사에 유리하게 작용한다는 결과가 일관되게 보고되고 있으며, 근래에는 P 요구량 역시 낮아지고 있는 추세이다(Roland, 1986).

Na, Cl 및 Mg와 같은 다량광물질은 체내 산-염기 균형에 영향을 미침으로써(Chan, 1974), 난각질에 변화를 유발시킨다(Leeson과 Summers, 2001). 음수 공급원내 Na와 Cl이 다량 함유되었을 때 29주령의 산란초기의 개체에서 약 9 %의 난각이상이 나타났으며(Balnave와 Scott, 1986), 이러한 부정적인 영향은 주령이 증가할수록 더 심화될 수 있다(Yoselewitz와 Balnave, 1989).

사료내 식염 증가 및 식염수(saline water)의 공급에 의해 난각질이 저하되었으며(Pourreza 등, 1994), 이는 난각선 내 carbonic anhydrase 활성의 감소(Yoselewitz와 Balnave, 1989)와 bicarbonate 공급의 감소(Balnave 등, 1989)에 의한 영향으로 사료된다.

사료내 Mg 수준이 너무 낮으면 난각질의 저하

가 나타날 수 있지만(Waddell 등, 1991), Mg 수준이 지나치게 높아도 난각질에는 부정적인 영향을 초래한다. Atteh와 Leeson (1983)은 다양한 수준의 Ca와 Mg 수준에 대한 연구에서 사료내 Mg 수준이 증가하면 난각내 Ca, 골격내 Ca와 회분 함량이 감소하였고, 난각내 Mg 함량의 증가와 난각질이 반비례한다고 하였다.

노계에 Mn, Cu 및 Zn과 같은 필수 미량광물질을 추가 공급해주면 후기 난각질의 개선효과를 기대할 수 있다(Mabe 등, 2003).

(4) 사료내 비타민 D_3 대사산물 및 기타 영양성분에 의한 영향

비타민 D_3는 Ca 흡수 및 체내로의 운반에 도움을 주는 영양성분으로(Cohen 등, 1978), 자외선 조사에 의해 7-dehydrocholesterol이 cholecalciferol로 전환된다(Norman, 1987). 그러나 산란계사의 구조 및 점등 시스템으로는 Ca 및 P 대사를 원활히 유지할 만큼의 충분한 양의 cholecalciferol이 합성되지 않기 때문에 사료 내에 첨가하여 공급해 주어야 한다(Scott 등, 1982).

비타민 D_3의 부족이 4주 정도 지속되면 산란율이 30 %까지 저하되고, 난각이 없거나 매우 얇은 계란이 생산되었다(Huileshen 등, 1981). Charles 등(1978)은 비타민 D_3를 200 IU로 낮게 설계한 산란계 사료에 25-(OH)D_3를 부가했을 때 난각질이 유의하게 개선되었다고 하였으며, 산란중기 및 후기에 25-(OH)D_3를 급여하면 난각두께가 유의하게 개선된다는 결과가 다수 보고되었다(Marret 등, 1975 ; Soares 등, 1976).

그러나 통상적인 Ca 및 P 수준을 유지한 사양조건에서 25-(OH)D_3에 의한 난각질 개선은 나타나지 않았으며(Keshavarz, 2003b), 강제환우시킨 계군에서도 25-(OH)D_3의 대체가 난각질에 미치는 효과는 없었다는 상반된 결과(Hamilton, 1980) 역시 보고되었다. 비타민 D_3 외에도 비타민 C(Bell과 Marion, 1990), 비타민 E(Sahin 등, 2003) 및 niacin(Leeson 등, 1991)의 공급이 난각질 개선에 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다.

Keshavarz(2003a)는 비교적 최근에 수행된 연구에서 산란후기 사료에서 콜린, 엽산 및 비타민 B_{12} 수준을 감소시키면 난각질이 개선되었다고 하였는데, 이는 이들 비타민에 의한 직접적인 영향이라고 하기 보다는 난중감소에 의한 난각질 개선효과로 사료된다.

산란계 사료내 제1제한 아미노산인 메치오닌(Met)을 주제로 한 연구에서는 주로 사료내 수준을 감소시킴으로써 난중감소에 의한 간접적인 난

Table 1. Relative biological activity of 25-hydroxycholecalciferol in mature poultry when compared to vitamin D_3[1,2]

Parameters	25-(OH)D_3	Standard	References
Shell strength	>1 ×	D_3	Charles and Ernst, 1973
Shell strength	>1 ×	D_3	Charles *et al.*, 1978
Shell quality	2.5 ×	D_3	McLoughlin and Soares, 1976
Shell quality	>1.25 ×	D_3	Marrett *et al.*, 1975
Shell quality	>1 ×	D_3	Polin and Ringer, 1977
Shell quality	1 ×	D_3	Hamilton, 1980
Shell quality	1 ×	D_3	Roland and Harms, 1976
Shell quality	1 ×	D_3	Cohen *et al.*, 1978
Shell quality	1.5 ×	D_3	Kaetzel and Soares, 1979
Hatchability	Improved	D_3	Manley *et al.* 1978
Hatchability	Normal	D_3	Abdulrahim *et al.*, 1979

[1] Adapted from Soares *et al.*(1995). / [2] 25-(OH)D_3, 25-hydroxycholecalciferol.

각질 개선효과에 초점이 맞추어져 있다. Jackson 등(1987)은 사료내 Met를 저 수준(0.233 %)으로 공급했을 때 산란율 및 난중은 감소하였지만, 난각강도는 개선되었다고 하였고, Keshavarz(2003a) 역시 산란후기 사료내 Met 수준을 낮추면 난각질이 개선되는데, 여기에는 난중 감소가 동반된다고 보고하였다. 사료의 제한급이가 난각질 개선에 효과가 있었다는 연구보고도 있다(Kang 등, 1996).

(5) 사양관리 및 기타 요인에 의한 영향

난각질은 주령이 증가함에 따라 저하되지만, 강제환우 후 일시적으로 난각질이 개선될 수 있다(Garlich 등, 1984).

초산개시시점 역시 후기 난각질의 변화에 영향을 미칠 수 있는데, 갈색계에서 초산을 16주령으로 빠르게 할 경우 20주령 초산과 비교하여 42주령까지는 큰 차이가 없었으나, 난각두께가 더 빠르게 약화되며, 62주령에 도달해서는 유의한 변화가 나타났다(Kling 등, 1985). Bar 등(1998)은 Ca가 결핍된 조건에서는 초산이 빠른 계군에서 난각질 저하가 더 빠르게 나타난다고 하였다.

환경온도가 18 ℃에서 30 ℃로 상승하면 난각질이 저하되는데(Chen과 Balnave, 2001), 이는 사료섭취량 감소에 의한 Ca의 부족에서 기인하며, 혈중 Ca의 감소가 동반되어 관찰된다(Warren과 Schnepel, 1940). Mongin(1968)은 고온 사육시에 난각 형성에 필요한 혈중 bicarbonate 농도가 감소한다고 하였다. 고온스트레스는 젊은 개체보다는 노계에서 난각질을 더 크게 저하시키는데(Arima 등, 1976), 심야점등 프로그램의 적용을 통해 환경온도 상승에 의한 난각질 저하를 다소 완화시킬 수 있다(Grizzle 등, 1992).

고온스트레스 외에도 환경스트레스는 비정상적인 난각의 형성 원인이 된다. Reynard와 Savory (1999)는 공시계를 재배치하는 인위적 스트레스를 부가할 때 난각질의 저하 뿐 아니라 비정상적인 난각 생산이 증가한다고 하였다. Hughes 등(1986)은 스트레스 호르몬인 adrenalin을 피하주사하면 난각선 내에서의 체재 시에 변화를 일으켜 비정상적인 난각의 발생이 증가한다는 흥미로운 결과를 관찰하였다. 그러나 우상원 등(2003)은 산란종계를 공시한 연구에서 케이지내 사육밀도(980, 735, 640 및 560 ㎠/bird) 차이가 종란 생산성 및 난각질에 부정적인 영향을 미치지 않았다고 하였다.

Ⅲ. 부화율에 영향을 미치는 요인

(1) 종란의 취급, 종계의 주령 및 유전적 요인

종란의 보관시간 및 보관온도를 적절히 설정하지 못하면 부화율이 저하된다. Heier와 Jarp(2001)은 육용종계의 부화율과 관련한 조사자료에서 부화율 저하의 가장 큰 원인이 종란 보관시간이라고 지적한 바 있다. 18 ℃의 온도에서 3일, 7일 및 14일간 보관했을 때 14일 보관 시에 부화율이 현저하게 저하되었다(Elibol 등, 2002). 종란의 보관시간이 연장될수록 부화율은 저하되는데, 젊은 계군에 비해 늙은 계군에서 생산된 종란의 부화율이 더 크게 저하된다(Lapao 등, 1999).

종란의 보관시간과 보관온도 간에도 밀접한 상관관계가 있는데(Brake 등, 1997), Kirk 등(1980)은 18 ℃에서 2일간 보관한 종란의 부화율이 15 ℃에서 보관한 종란에 비해 높았으나, 8일간 보관한 조건에서는 15 ℃에서 보관한 종란의 부화율이 더 높았다고 하였다. 종란의 보관시간이 긴 것과 비교하여 종란 보관시간이 짧을수록 보다 높은 온도에서 종란을 보관한 것이 부화율 향상에 도움이 된다(Mayes와 Takeballi, 1984).

부화과정 중의 전란조건 역시 부화율에 영향을 미칠 수 있다. 과도한 전란(전란 횟수 및 각도)은 부화율에 부정적인 영향을 미치는데(Robertson, 1961), 하루에 전란을 0, 4, 및 24회 실시하여 부화율을 조사한 연구에서 1일 4회 전란시 부화율이 가장 높았고, 24회 전란이 전란을 하지 않은 처리에 비해 높은 부화율을 나타내었다(Elibol 등, 2002).

보관시간을 다양하게 설정하고 전란각도를 조사한 연구에서 90°전란의 경우 부화율이 58.8 %로 180°전란의 50.7 %에 비해 유의하게 증가하였다(Becker 등, 1969).

부화과정 중의 상대습도 역시 중요한데, 상대습도가 63 %인 조건에서는 부화후기의 배자 사망이 높았으며, 43 %에 비하면 53 %의 부화율이 가장 높았다(Bruzual 등, 2000).

종계의 주령(Lapao 등, 1999)과 계통(Ruiz와 Lunam, 2002)에 따라 부화율은 달라질 수 있다. Elibol 등(2002)은 31주령과 52주령의 종계군을 비교한 연구에서 종계의 주령 증가와 함께 종란율과 부화율이 감소하였다고 보고하였으며, 특히 종란을 오래 보관한 경우 더 큰 차이를 나타내었다고 하였다. McDaniel 등(1979) 역시 64주령의 육용종계에서 젊은 계군과 비교하여 초기의 배자 폐사가 증가하고 부화율이 더 낮았다고 하였다. 노계군에서 생산된 종란의 부화율이 낮은 원인 중 일부는 알부민의 높이가 감소하기 때문이다(Lapao 등, 1999).

Roque와 Soares (1994)는 육용종계에서 얇은 난각의 종란(thined-shell egg)에 비하여 두꺼운 난각의 종란(thicked-shell egg)에서 부화율이 유의하게 높았다는 결과를 보고하였다. 이는 후기 난각질의 개선을 통해서 종란 생산성을 향상시킬 수 있음을 시사하는 결과이다.

Brake(1988)는 Hubbard 암컷 중 조우성과 만우성 계통을 비교한 두 차례의 실험에서 만우성 계통이 더 큰 종란을 생산한 반면 난각비율이 더 낮았으며 그 결과 종란 부화율이 각각 1.7 %(실험 1), 1.5 %(실험 2) 감소하였다고 보고하였다. Ruiz와 Lunam(2002) 역시 계통간의 부화율을 조사한 연구에서 종란의 보관기간에 관계없이 부화에 소요되는 시간과 부화 후 병아리의 체중이 상이했다는 결과를 관찰하였다.

(2) 영양적 요인

배자의 정상적인 성장과 발달을 위해서는 계란내로 모든 필요한 영양소가 완전히 공급되는 것을 전제로 한다. 배자에 필요한 영양소는 종계사료를 통해서 또는 모체의 체내 대사를 통해서 공급되는데, 흡수-대사-이행의 단계에는 유전적 변이가 있다(Wilson, 1997). 발육 8~14일간의 배자 사망은 종계사료내 영양소 결핍을 시사하는 민감한 지표가 되는데, 정상적인 경우 이 시기의 배자 사망은 극히 적다(Leeson 등, 1979b). 특정 영양소의 과잉은 부족과 마찬가지로 심각한 문제를 유발한다. 대개는 영양소의 과다 및 결핍은 배자에 영향을 미치기 이전에 산란의 중지를 유발하는 예가 많다.

종계사료내 칼슘(Ca) 수준은 일차적으로 난각질에 대한 영향을 통해 배자발달에 영향을 미친다(Romanoff와 Romanoff, 1972). 종계사료내 Ca가 결핍되면 난각질이 불량해지고 종란의 중량손실이 많아지는데, 특히 부화 1주째에 폐사가 증가하고 배자의 성장과 골격발달이 불량해짐으로써 부화후기의 폐사 역시 증가한다(McDaniel 등, 1979).

비타민 D는 Ca 대사에 관여하는 점 외에도 난각을 통한 배자로의 Ca 이행을 통해 부화율에 큰 영향을 미친다(Wilson, 1997). 비타민 D가 결핍되면 부화후기(주로 18일과 19일째)의 배자 사망율이 높아지며, 칠면조 배자의 경우 부화 4주째의 폐사가 증가한다(Stevens 등, 1984). 비타민 D 결핍은 부화후기의 폐사율 증가뿐만 아니라 부리기형과 골격형성의 이상에 의한 폐사를 증가시키는 것으로 알려져 있다(Landauer, 1967).

부화에 미치는 영향은 모든 비타민 D 대사산물의 활성이 동일하지 않은데(Harms 등, 1990), 비타민 D 공급원으로서 1,25$(OH)_2D_3$를 첨가할 때 계란은 정상적으로 생산되지만 부화는 되지 않았으며(Sunde 등, 1978), 25-$(OH)D_3$를 급여했을 때는 배자 발생이 정상적인 종란이 생산되었다고 보고된 바 있다(Sunde 등, 1978). Manley 등(1978)은 비타민 D_3 결핍 사료에 25-$(OH)D_3$를 첨가 급여했을 때 cholecalciferol에 비해 25-$(OH)D_3$에 의한 부화율 개선효과가 더 컸다고 보고하였다. 비타

민 D의 과다 역시 부화율을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Landauer, 1967).

비타민 및 광물질 외에 사료내 에너지 영양소의 수준에 의해서도 부화율이 달라질 수 있다. 저에너지-고단백질 사료를 급여한 종계에서 생산된 종란은 부화율이 낮은데, 부화중기의 배자 폐사의 증가가 주요 원인이다(Leeson과 Summers, 1991).

대조적으로 조단백질 수준이 부화율에 영향을 미치지 않았다는 보고도 있다. Lopez와 Leeson (1994)은 육용종계 노계에서 조단백질 수준이 9~15 %인 실험사료를 급여한 연구에서 부화율에는 영향이 없었다고 하였으며, 조단백질 수준을 10~16 %로 조정하여 시험한 후속 연구에서도 동일한 결과가 관찰되었다(Lopez와 Leeson, 1995). Vo 등 (1994)은 갈색계통의 암탉에 고단백질 사료를 급여하면 부화율이 더 향상되었다고 하였다. 종계사료내 phenylalanine이 과다하면 배자 이상이 유발될 수 있다(Giroud, 1968).

육용종계에서 에너지 섭취수준을 12 % 감소시켰을 때 종란의 부화율에는 큰 영향이 없었으며(Attia 등, 1995), 육성기 중에 단백질과 에너지 섭취를 제한하여도 이후의 수정율 및 부화율에는 영향을 미치지 않았다는 연구보고도 있다(Fattori 등, 1991).

우리는 산란종계 노계(60주령 Hy-Line Brown VARIETY 산란종계 암탉 540수와 수탉 54수)에서 사료내 Ca 수준 및 25-(OH)D_3의 첨가수준을 다양하게 변화시켰을 때 종란 생산성 및 후기 난

Table 2. Effects of nutrients on hatchability in poultry

Nutrients	Levels	Hatchability	Embryonic mortality	References
Minerals				
P	Deficient	↓	-	O'Rourke *et al.*, 1954
	Adequate	Normal	-	Wilson *et al.*, 1980
Mg	Deficient	-	↑	Sell *et al.*, 1967
Zn	Deficient	↓	↑	Kienholz *et al.*, 1961
	Excess	Normal	-	Stahl *et al.*, 1986
Cl	Low	↓	-	Harms and Wilson, 1984
K	Low	↓	-	Manson *et al.*, 1993
Se	Excess	-	↑	Kinder *et al.*, 1994
I	Deficient	↓	-	Landauer, 1967
	Excess	-	↑	Christensen *et al.*, 1991
Boron	High	↓	-	Rossi *et al.*, 1993
Vitamins				
A	Deficient	↓	↑	West *et al.*, 1992
	Excess	↓	↑	March *et al.*, 1972
E	Depletion	-	↑	Tengerdy and Nockels, 1973
Biotin	Deficient	-	↑	Leeson *et al.*, 1979b
Riboflavin	Deficient	-	↑	Romanoff and Romanoff, 1972
Vitamin B12	Deficient	↓	↑	Leeson *et al.*, 1979b
Thiamin	Deficient	-	↑	Naber *et al.*, 1954
Niacin	Deficient	-	↑	Leeson *et al.*, 1979a
Folic acid	Deficient	-	↑	Leeson *et al.*, 1979a
Pyridoxine	Deficient	↓	-	Weiss and Scott, 1979

각질에 미치는 영향을 평가했다. 사료내 Ca 수준을 NRC(1994) 요구량과 종계회사 및 Keshavarz (2000)의 권장수준을 근거하여 사료내 3.3, 3.9 및 4.5 %로 설정하였으며, 25-(OH)D_3를 각각 0, 75 및 150 ㎍/kg 수준으로 첨가하는 총 9개의 처리(3 ×3 factorial design)로 실험을 수행하였다.

산란율은 Ca 3.9 % 첨가구가 Ca 3.3 %와 Ca 4.5 % 첨가구에 비해 유의한 증가가 나타났으며 ($P<0.01$), 25-(OH)D_3의 무첨가구에서 25-(OH)D_3 첨가구에 비해 유의하게($P<0.01$) 높게 나타났다.

난각강도는 Ca의 경우 4.5 % 첨가구가 3.9 %와 3.3 % 첨가구에 비해 유의하게 개선되었으며 ($P<0.01$), 25-(OH)D_3의 경우 150 ㎍/kg 첨가구에서 70 ㎍/kg 첨가구와 무첨가구에 비해 유의하게 개선되었다($P<0.01$).

수정율은 Ca 급여수준 변화 및 25-(OH)D_3의 첨갸 급여에 따라 처리구간에 큰 차이는 없는 것으로 나타났으나, 입란대 부화율은 25-(OH)D_3 150 ㎍/kg 첨가구에서 25-(OH)D_3 무첨가구에 비해 유의하게($P<0.05$) 높게 인정되었다.

경골내 Ca 함량은 Ca 4.5 % 급여구에서 Ca 3.3 % 급여구 및 Ca 3.9 % 급여구에 비해 유의한 차이가 나타났으나($P<0.05$), 25-(OH)D_3의 첨가효과는 인정되지 않았다(data were not shwon).

상기의 결과로부터 산란종계의 후기 난각질 개선을 위해서는 사료 내의 Ca 수준을 비교적 높게 설정하는 것이 유리하며, 25-(OH)D_3의 첨가에 의해서도 난각질이 개선될 수 있는 것으로 나타났다. 또한 150 ㎍/kg 수준의 25-(OH)D_3를 첨가함으로써 입란대 부화율이 유의하게 개선되는 흥미로운 결과가 시사되었다.

Ⅳ. Ca 대사에 영향을 미치는 생리활성물질

(1) Isoflavon

대표적인 phytoestrogen인 isoflavon은 대두를 비롯한 콩 제품에 다량 함유되어 있으며, 호르몬의 생산 및 골 대사의 작용에 관여한다(Bingham 등, 1998). Arjmandi 등(1998)은 난소를 제거한 실험용

Table 3. Effects of dietary calcium and 25-hydroxycholecalciferol on egg production, shell quality, hatch of egg set, and fertility in aged egg-type breeder layers[1,2]

Treatments	Egg production %	Shell strength kg/cm^2	Shell thickness mm×10^{-2}	Hatch of egg set %	Fertility %
T1	66.2 ±1.42	3.33 ±0.12	36.63 ±0.14	67.5 ±3.45	87.2 ±1.45
T2	66.1 ±1.58	3.48 ±0.06	37.88 ±0.31	73.8 ±3.17	87.3 ±4.04
T3	65.3 ±0.96	3.53 ±0.11	36.80 ±0.18	77.6 ±3.40	89.8 ±1.53
T4	71.7 ±1.53	3.40 ±0.10	36.80 ±0.04	67.6 ±7.52	86.8 ±1.76
T5	63.6 ±1.18	3.60 ±0.09	37.95 ±0.46	67.1 ±2.89	88.6 ±2.10
T6	65.0 ±1.78	3.63 ±0.05	37.98 ±0.17	73.6 ±1.14	89.3 ±1.41
T7	65.3 ±1.60	3.48 ±0.03	37.50 ±0.23	64.7 ±3.71	83.4 ±5.77
T8	66.5 ±0.90	3.55 ±0.06	37.73 ±0.14	66.0 ±0.84	82.4 ±3.05
T9	64.2 ±1.44	3.83 ±0.09	38.08 ±0.34	71.3 ±3.49	83.2 ±1.88
Ca	P<0.01	P<0.01	P<0.01	NS	NS
25-(OH)D_3	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.05	NS
Ca×25-(OH)D_3	P<0.01	P<0.05	P<0.01	NS	NS

[1] 25-(OH)D_3, 25-hydroxycholecalciferol. / [2] Mean±SE

T1, Ca 3.3%-25(OH)D_3 0 ㎍ / T2, Ca 3.3%-25(OH)D_3 75 ㎍ / T3, Ca 3.3%-25(OH)D_3 150 ㎍
T4, Ca 3.9%-25(OH)D_3 0 ㎍ / T5, Ca 3.9%-25(OH)D_3 75 ㎍ / T6, Ca 3.9%-25(OH)D_3 150 ㎍
T7, Ca 4.5%-25(OH)D_3 0 ㎍ / T8, Ca 4.5%-25(OH)D_3 75 ㎍ / T9, Ca 4.5%-25(OH)D_3 150 ㎍.

쥐를 이용하여 isoflavon을 급여했을 때 isoflavon 급여구에서 골 밀도가 유의하게 증가함을 관찰하였으며, 또한 isoflavon의 경구투여 후 골 손실이 유의하게 예방되었다(Picherit 등, 2000). 닭의 배아대퇴골을 이용한 *in vitro* 연구에서 isoflavon은 골의 무기질화를 촉진시켰으며(Tsutsumi, 1995), 조골세포(osteoblast cell)에서 alkaline phosphatase의 생산을 증가시키고 파골기능은 억제시키는 효과가 보고되었다(Anderson과 Garner, 1998).

아직까지는 isoflavon에 의한 골 보호 작용기전에 대해서는 완전히 규명되지 않았지만 isoflavon이 골 손실을 억제하면서 동시에 골 형성을 촉진하는 것으로 추정하고 있다. 그러나 상기의 결과는 인체와 실험동물을 모델로 한 연구가 대부분이며, 동물산업 분야에서 수행된 연구는 거의 없다. 특히 산란에 미치는 estrogen의 직접적인 영향을 고려하면 estrogen 유사화합물로서의 isoflavon 효과를 충분히 검증할 필요가 있겠다.

(2) Casein phosphopeptide

Ca의 체내 흡수를 촉진시키는 성분 중에 카제인의 가수분해 산물인 casein phosphopeptide(CPP)에 대한 연구도 다수 보고되었다(Gueguen 등, 2000). Sato 등(1983)은 *in vitro* 연구를 통해 우유 유래의 CPP가 칼슘(Ca)의 흡수에 영향을 미치며, Mykkanen과 Wasserman(1980) 역시 어린 병아리의 소장 loop를 이용한 연구에서 Ca 이행을 증가시켰다는 결과를 보고하였다. Isoflavon의 일종인 genistein과 CPP가 골 성분에 미치는 영향에 관한 연구에서 골다공증 예방에 genistein과 CPP가 상승적으로 작용하였다(Ma와 Yamaguchi, 2000). 그러나 isoflavon 및 CPP가 Ca의 흡수 및 대사에 긍정적인 영향을 미친다는 연구 결과는 인체 및 실험동물을 이용한 연구로 국한되어 있으며, 가축을 이용한 연구는 국내외적으로 충분치 않다.

(3) 홍화씨

홍화씨(*Carthamus tinctorius L.*) 분말은 국내에서는 오래 전부터 뼈 형성이나 골다공증 예방을 위한 임상적 목적으로 이용해 왔다. 국내산 홍화의 씨는 금이 가거나 다친 뼈를 빠르고 튼튼하게 회복시키는 등 뼈 질환에 뛰어난 효과가 있다는 연구결과가 보고되고 있다(서현주 등, 2000). 송해룡 등(2002)은 골 결손을 유발한 쥐에게 홍화씨 분말을 30 % 수준으로 정상 식이에 보충해 주었을 때 골 유합 및 치유가 일반 식이군에 비해 빠르게 일어남으로써 홍화씨가 신생 뼈의 형성을 촉진시키며, 부수적으로 뼈의 석회화 과정을 유도하는 효과가 있었다고 하였다.

홍화씨의 효과에 대한 과학적 근거는 아직 희박하지만, 홍화씨를 지속적으로 섭취했을 때 홍화유지 내에 다량 함유된 linoleic acid로부터 체내 합성되는 prostaglandin E2가 골격 형성에 영향을 미칠 가능성을 고려할 수 있다(Mo 등, 2002). 그러나 Kim 등(2002)이 난소를 적출한 쥐에 탈지 홍화씨(defatted safflower seed)를 급여했을 때 골량의 감소를 부분적으로 예방하였다는 결과를 보면 지방 분획 외의 기타 성분에 의해서도 골 보호효과가 발휘됨을 알 수 있다. 또한 홍화씨 성분 중 phytoestrogen의 일종인 lignan과 flavonoids 성분이 estrogen 유사 효과를 발휘할 가능성을 고려할 수 있는데, 김기영 등(2004)은 최근에 홍화씨 함유 식품의 급여 후 난소절제 쥐에서 골다공증의 치유 효과가 발휘되었다는 결과를 관찰함으로써 이러한 가설을 입증한 바 있다.

(4) 키토산

키토산은 2-amino-2-deoxy-D-glucose가 β-1,4 결합을 한 구조를 하고 있으며, 갑각류의 껍질, 곤충류의 외피 및 박테리아의 세포벽 등에 존재하는 천연고분자화합물이다(Weiner, 1992). 현재까지 키토산은 혈중 콜레스테롤의 저하 효과(Sugano 등, 1980) 및 질병감염에 대한 저항력 증진(Suzuki 등, 1984)과 같은 다양한 생리활성을 발휘하는 것으로 알려져 있다.

Lahiji 등(2000)은 키토산이 조골세포 및 연골세

포의 성장과 영속적인 기능을 위한 기질로서 뼈와 연골의 결함을 보수할 수 있다는 결과를 시사하였으며, Klokkevold 등(1996) 역시 *in vitro* 연구를 통해 키토산이 조골세포의 분화를 강화하여 뼈 형성을 개선시키는 효과가 있다고 하였다.

닭에서 사료내 키토산의 소화율은 88~98 % 정도로 매우 높으며(Hirano, 등 1990), 산란율이 유의하게 증가하는 등(김창혁 등, 2001), 키토산의 효율적 활용이 가능할 것이라는 결과가 일부 시사된 바 있다.

반면 국외에서 수행된 연구에서 Fuentes 등(1999)은 산란계 사료 내에 키토산을 3 % 수준까지 첨가 급여했을 때 난 생산성에 아무런 영향을 미치지 않았다고 보고하였고, Davis 등(2000)은 키토산 첨가에 의해 난중이 감소하였다는 부정적인 결과를 관찰하였다. 두 연구 모두에서 키토산 첨가 급여 후 난각질이 개선되었다는 증거는 발견되지 않았다.

Pharaoh 메추리에게 키토산을 급여했을 때 생존율이 유의하게 개선되고 부화율이 향상되었다는 흥미로운 결과가 관찰된 바 있다(Tarasewicz 등, 2003).

우리는 2차례의 독립된 실험을 통해 산란종계 노계에서 Ca 대사 관련 생리활성물질의 첨가 급여가 종란 생산성 및 후기 난각질에 미치는 영향을 평가하였다. 실험 1에서는 56주령 Hy-Line Brown VARIETY 산란종계 암탉 360수와 수탉 36수를 공시하여 Ca 수준이 3.3 % 혹은 3.6 % 수준인 실험사료에 isoflavon과 CPP를 각각 0.2 % 혹은 0.5 % 수준으로 첨가, 혹은 isoflavon과 CPP를 전혀 첨가하지 않은 무첨가군 등 전체 6개의 처리구(3반복)로 구성하였다.

실험 1에서는 사료섭취량, 난 생산성 및 종란율에서는 처리간에 유의한 차이가 없었다. 사료내 Ca 수준 증가 및 isoflavon 첨가는 난각강도를 각각 유의하게 개선시킨 것으로 나타났으며, CPP의 첨가에 의해서는 특별한 변화가 관찰되지 않았다. 수정율 및 부화율에서도 처리간에 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 경골강도 및 경골내 성분조성에서 사료내 Ca 수준 및 isoflavon과 CPP의 첨가 효과 역시 발견되지 않았다(data were not shown).

혈청내 Ca 및 P 농도에서는 Ca 급여 수준의 변

Table 4. Effects of dietary isoflavon and casein phosphopeptide on egg production, shell quality, hatch of egg set, and fertility in aged egg-type breeder layers[1]

Treatments	Egg production %	Shell strength kg/cm^2	Shell thickness $mm\times10^{-2}$	Hatch of egg set %	Fertility %
T1	71.2 ±3.27	3.35 ±0.09	36.15 ±0.34	71.4 ±0.29	86.8 ±3.06
T2	70.4 ±8.55	3.73 ±0.11	37.19 ±0.30	64.4 ±5.04	89.0 ±2.90
T3	68.8 ±3.57	3.72 ±0.13	37.47 ±0.53	69.0 ±0.92	85.2 ±3.81
T4	59.9 ±1.34	3.72 ±0.09	37.46 ±0.31	71.6 ±4.65	88.0 ±1.82
T5	69.2 ±2.48	3.88 ±0.11	37.59 ±0.44	68.0 ±1.73	89.2 ±2.65
T6	68.9 ±5.21	3.73 ±0.11	36.60 ±0.51	72.6 ±4.65	88.4 ±3.60
Ca	NS	P<0.05	NS	NS	NS
Isoflavon	NS	P<0.05	NS	NS	NS
CPP	NS	NS	NS	NS	NS
Ca×Isoflavon	NS	NS	NS	NS	NS
Ca×CPP	NS	NS	P<0.05	NS	NS

[1] Mean±SE

T1, Ca 3.3% / T2, Ca 3.3%-isoflavon 0.2% / T3, Ca 3.3%-CPP 0.5% / T4, Ca 3.6% / T5, Ca 3.6%-isoflavon 0.2% / T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

화에 따른 영향이나 isoflavon과 CPP 첨가에 의한 영향은 관찰되지 않았으며, 혈중 estrogen 및 calcitonin 농도에서도 처리간에 차이가 없는 것으로 나타났다(data were not shown).

실험 2에서는 54주령 Hy-Line Brown Variety 산란종계 암탉 400수와 수탉 40수를 실험동물로 공시하여 Ca 3.5 % 수준의 실험사료(Control)에 홍화씨 분말을 0.25 % 및 0.50 % 수준으로 첨가한 실험구(T1 및 T2)와 키토산을 0.10 % 및 0.20 % 수준으로 첨가한 실험구(T3 및 T4)로, 총 5개의 처리(4반복)를 완전임의배치로 구성하였다.

실험 2에서 종란율은 대조구에 비해 홍화씨 분말 및 키토산을 첨가한 모든 실험구에서 첨가수준과 관계없이 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 평균 난각강도는 홍화씨 분말 및 키토산 첨가에 의해 유의하게 개선되었으며($P<0.01$), 난각두께는 키토산 첨가구가 대조구에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다($P<0.01$). 수정율 및 입란대 부화율은 대조구에 비해 키토산 첨가구에서 유의하게 개선됨이 관찰되었다($P<0.01$). 혈중 estrogen, calcitonin 및 PTH 등 호르몬 농도에서는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다(data were not shown).

2차례의 실험을 통해 isoflavon 및 키토산과 같은 Ca의 이용성에 영향을 미치는 성분을 적절히 활용함으로써 후기 난각질과 부화율의 개선을 통해 생산성을 향상시킬 수 있을 것으로 사료되었다.

V. 참고문헌

Abe, E., H. Horikawa, T. Masumura, M. Sugahara, M. Kubota, and T. Suda, 1982. Disorders of cholecalciferol metabolism in old egg-laying hens. J. Nutr. 112:436-446.

Al-Batshan, H. A., S. E. Scheideler, B. L. Black, J. D. Garlich, and K. E. Anderson, 1994. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. Poultry Sci. 73:1590-1596.

Anderson, J. J., and S. C. Garner, 1998. Phyto-estrogens and bone. Baillieres Clin. Endocrinol. Metab. 12:543-557.

Arima, Y., F. B. Mather, and M. M. Ahmad, 1976. Response of egg production and shell quality to increases in environmental temperature in two age groups of hens. Poultry Sci. 55:818-820.

Arjmandi, B. H., R. Birnbaum, N. V. Goyal, M. J. Gentlinger, S. Juma, L. Alekel, C. M. Hasler, M. L. Drum, B. W. Holis, and S. C. KuKreja, 1998. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian

Table 5. Effects of dietary isoflavon and casein phosphopeptide on egg production, shell quality, hatch of egg set, and fertility in aged egg-type breeder layers[1]

Treatments	Egg production %	Shell strength kg/cm^2	Shell thickness mm×10^{-2}	Hatch of egg set %	Fertility %
Control	64.18 ±1.77	4.00 ±0.07^{C,Y}	36.57 ±0.30^{Y}	62.46 ±3.40^{Y}	81.53 ±3.85^{Y}
T1	68.18 ±3.05	4.35 ±0.06^{B}	36.25 ±0.23	67.85 ±2.03	87.35 ±1.85
T2	69.93 ±2.56	4.56 ±0.06^{A}	36.79 ±0.30	72.43 ±2.82	88.87 ±2.83
T3	67.85 ±1.22	4.71 ±0.08^{X}	38.15 ±0.33^{X}	75.87 ±2.41^{X}	93.48 ±1.18^{X}
T4	68.10 ±3.46	4.81 ±0.07^{X}	37.40 ±0.30^{X,Y}	75.87 ±2.31^{X}	92.55 ±1.21^{X}
Control *vs.* SFS	NS	P<0.01	NS	NS	NS
Control *vs.* Chitosan	NS	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.01

[1] Mean±SE

T1, SFS powder 0.25% / T2, SFS powder 0.5% / T3, chitosan 0.1% / T4, chitosan 0.2%

[A-C] Values with different superscripts between Control and SFS powder groups within a same period differ significantly(P<0.01).

[X,Y] Values with different superscripts between Control and chitosan groups within a same period differ significantly(P<0.01).

hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. Am. J. Clim. Nutr. 68(Suppl.): 1364s-1368s.

Atteh, J. O., and S. Leesson, 1983. Influence of increasing dietary calcium and magnesium levels on performance, mineral metabolism, and egg mineral content of laying hens. Poultry Sci. 62: 1261-1268.

Attia, Y. A., W. H. Burke, K. A. Yamani, and L. S. Jenson, 1995. Daily energy allotments and performance of broiler breeders. 2. Females. Poultry Sci. 74:261-270.

Austic, R. E., and M. C. Nesheim, 1990. Poultry production, 13th ed., Lea&Febiger, Ltd.

Balnave, D., and T. Scott, 1986. The influence of minerals in drinking water on egg shell quality. Nut. Rep. Int. 34:29-34.

Balnave, D., I. Yoselewitz, and R. J. Dixon, 1989. Physiological changes associated with the production of defective egg-shells by hens receiving sodium chloride in the drinking water. Br. J. Nutr. 61:35-43

Bar, A., V. Razaphkovsky, and E. Vax, 2002. Re-evaluation of Ca and phosphorus requirements in aged laying hens. Br. Poultry Sci. 43:261-269.

Bar, A., E. Vax, and S. Striem, 1998. Effects of age at onset of production, light regime and dietary calcium on performance, eggshell traits, duodenal calbindin and cholecalciferol metabolism. Br. Poultry Sci. 39:282-290.

Becker, W. A., J. V. Spencer, and B. W. Hawker, 1969. Angle of turning chicken eggs during storage. Poultry Sci. 48:1748. (Abstr.)

Bell, D. E., and J. E. Marion, 1990. Vitamin C in laying hen diets. Poultry Sci. 69:1900-1904.

Bingham., S. A, C. Atkinsan, J. Liggins, Bluck, and A. Coward, 1998. Phyto-oestrogens: where are we now? Br. J. Nutr. 79:393-406.

Brake, J., 1988. Relationship of time of feeding and strain to egg shell quality and hatchability in broiler breeder. Poultry Sci. 67:538-543.

Brake, J., T. J. Walsh, C. E. Benton, Jr. J. N. Petittie, R. Meijerhof, and G. Penalva. 1997. Egg handing and storage. Poultry Sci. 76:144-151.

Bruzual, J. J., S. D. Peak, J. Brake, and E. D. Peebles, 2000. Effects of relative humidity incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder flocks. Poultry Sci. 78:827-830.

Chan, J. C. M., 1974. The influence of dietary intake on endogenous acid production. Nutr. Metab. 16:1-9.

Charles, O. W., S. Duke, and B. Reddy, 1978. Further studies on the response of laying hens to 25-hydroxy cholecalciferol. Poultry Sci. 57: 1098-1099.

Chen, J., and D. Balnave, 2001. The influence of drinking water containing sodium chloride on performance and eggshell quality of a modern, colored layer strain. Poultry Sci. 80:91-94.

Clagett, C. O., E. G. Buss, and Y. Tamaki, 1977. Egg shell quality: calcium metabolism in thick and thin shell genotype. Poultry Sci. 56:1703.

Clunies, M., D. Park, and S. Leeson, 1992. Ca and phosphorus metabolism and eggshell formation of hens fed different amounts of calcium. Poultry Sci. 71:482-489.

Cohen, A., A, Bar, U. Eisner, and S. Hurwitz, 1978. Calcium absorption, calcium-binding protein, and egg shell quality in laying hens fed hydroxylated vitamin D derivatives. Poultry Sci. 57:1646-1651.

Davis, G. S., K. E. Anderson, and S. Hudson, 2000. The effect of chitosan on production characteristics in table egg pullets and laying hens. Poultry Sci. 79 (Suppl. 1):61.

Elibol, O., S.D Peak, and J. Brake, 2002. Effect of

flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. Poultry Sci. 81:945-950.

Fuentes, M., J. Zapata, E. Freitas, C. Nogueira, and C. Aguiar, 1999. Laying hen performance as affected by diet containing shark cartilage or chitosan. Poultry Sci. 78 (Suppl. 1):79.

Garlich, J., J. Brake, C. R. Parkhurst, J. P. Thaxton, and G. W. Morgan, 1984. Physiological profile of caged layers during one production year, molt and postmolt: Egg production, egg shell quality, liver, femur, blood parameters. Poultry Sci. 63:339-343.

Giroud, A., 1968. Nutrition of the embryo. Fed. Proc. 27:163-184.

Grizzle, J., M. Iheanacho, A. Saxton, and J. Broaden, 1992. Nutritional and environmental factors involved in egg shell quality of laying hens. Br. Poultry Sci. 33:781-794.

Guegeun, L., MsScAgar, and A. Pointillart, 2000. The bioavailability of dietary calcium. J. Am. College Nutr. 19:119S-136S.

Hamilton, R. M. G., 1980. The effects of dietary phosphorus, vitamin D_3, and 25-hydroxyvitamin D_3 levels on feed intake, productive performance, and egg and shell quality in two strains of force-molted White leghorns. Poultry Sci. 59: 598-604.

Hamilton, R. M. G., K. G. Holland, P. W. Voisey, and A. A. Grunder, 1979. Relationship between egg shell quality and shell breakage and factors that affect shell breakage in the field - a review. World's Poultry Sci. J. 35:177-190.

Harms, R. H., S. M. Bootwalla, S. A. Woodward, H. R. Wilson, and G. A. Untawale, 1990. Some observations on the influence of vitamin D metabolites when added to the diet of commercial laying hens. Poultry Sci. 69:426-432.

Heier, B. T., and J. Jarp, 2001. An epidemiological study of the hatchability in broiler breeder flocks. Poultry Sci. 80:1132-1138.

Hirano, S., C. Itakura, H. Seino, Y. Akiyama, I. Nonaka, N. Kanbara, and T. Kawakami, 1990. Chitosan as an ingredient for domestic animal feed. J. Agri. Food. Chem. 38:1214-1217.

Hughes, B. O., A. B. Gilbert, and M. F. Brown, 1986. Categorisation and causes of abnormal egg shells: relationship with stress. Br. Poultry Sci. 27:325-337.

Huileshen., J. D. Summers, and S. Leeson, 1981. Egg production and shell quality of layers fed various levels of vitamin D_3. Poultry Sci. 60: 1485-1490.

Hurwitz, S., and S. Bornstein, 1966. The effect of high dietary calcium on the performance of laying hens fed rations of varying energy levels. Poultry Sci. 45:805-809.

Hy-Line Variety Brown, 2000. Parent Stock Management Guide.

Jackson, M. E., H. M. Hellwig, and P. W. Waldroup, 1987. Shell quality : Potential for improvement by dietary means and relationship with egg size. Poultry Sci. 66:1702-1713.

Kang, C. W., K. T. Nam, O. E. Olson, and C. W. Carlson, 1996. Effects of dietary protein level, restricted feeding, strain and age on eggshell quality in laying hens. Asian-Aust. J. Anim. Aci. 9:727-735.

Keshavarz, K., 2000. Shell quality and bone mineralization : An overview of research at cornell university. Cornell Poultry Pointers vol. 50:7.

Keshavarz, K., 2003a. Effects of reducing dietary protein, methionine, choline, folic acid, and vitamin B_{12} during the late stages of the egg production cycle on performance and eggshell

quality. Poultry Sci. 82:1407-1414.

Keshavarz, K., 2003b. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. Poultry Sci. 82:1415-1422.

Keshavarz, K., and R. E. Austic, 1990. Effects of dietary minerals on acid-base balance and eggshell quality in chickens. J. Nutr. 120:1360-1369.

Kim, H. J., Y. C. Bae, R. W. Choi, S. H. Cho, Y. S. Choi, and W. J. Lee, 2002. Bone-protecting effects of safflower seeds in ovariectomized rats. Calcif. Tissue Int. 71:88-94.

Kirk, S., G. C. Emmans, R. McDonald, and D. Arnot, 1980. Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. Br. Poultry Sci. 21:37-53.

Kling, L. J., R. O. Hawes, R. W. Gerry, and W. A. Halteman, 1985. Effects of early maturation of brown egg-type pullets, flock uniformity, layer protein level, and cage design on egg production, egg size, and egg quality. Poultry Sci. 64:1050-1059.

Klokkevold, P. R., L. Vandermark, E. B. Kenney, and G. W. Bernard, 1996. Osteogenesis enhanced by chitosan(poly-N-acety glucosaminolycan) in vitro. J. Periodontol. 67:1170-1175.

Lahiji A., A. Sohrabi, D. S. Hungerford, and C. G. Frondoza, 2000. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chodrocytes. J. Biomed. Mater. Res. 51: 586-595.

Landauer, W., 1967. The hatchability of chicken eggs as influenced by environment and heredity. Monograph 1 (Revised). Storrs Agricultural Experiment Station, Storrs, CT.

Lapao, G., L. T. Gama, and M. Chaveiro-soares, 1999. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. Poultry Sci. 78:640-645.

Leeson, S., B. S. Reinhart, and J. D. Summers, 1979. Response of White Leghorn and Rhode Island Red breeder hens to dietary deficiencies of synthetic vitamins. 2. Embryo mortality and abnormalities. Can. J. Anim. Sci. 59:569-575.

Leeson, S., L. Caston, and J. D. Summers, 1991. Response of laying hens to supplemental niacin. Poultry Sci. 70:1231-1235.

Leeson, S., L. Caston, and J. D. Summers, 1997. Layer performance of four strains of Leghorn pullets subjected to various rearing program. Poultry Sci. 76:1-5.

Leeson, S., and J. D. Summers, and L. Caston, 1993. Response of brown-egg strain layers to dietary calcium or phosphorus. Poultry Sci. 72:1510-1514.

Leeson, S., and J. D. Summers, 2001. Nutrition of the chickens. 4th ed., University Books, Guelph, Ontario, Canada.

Lopez, G., and S. Leeson, 1994. Egg weight and offspring performance of older broiler breeders fed low-protein diets. J. Appl. Poult. Res. 3:164-170

Lopez, G., and S. Leeson, 1995. Response of broiler breeder to low-protein diets. 1. Adult breeder performance. Poultry Sci. 74:685-695.

Ma, Z. J., and M. Yamaguchi, 2000. Synergistic effect of genistein and casein phosphopeptides on bone components in young and elderly female rats. J. Health Sci. 46:474-479.

Mabe, I., C. Rapp, M. M. Bain, and Y. Nys, 2003. Supplementation of corn-soybean meal diet with manganess, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. Poultry Sci. 82:1903-1913.

Manley, J. M., R. A. Voitle, and R. H. Harms,

1978. The influence on hatchability of turkey eggs from the addition of 25-hydroxycholecalciferol to the diet. poultry Sci. 57:290-292.

Marret, L. E., F. R. Frank, and R. G. Zimbleman, 1975. 25-hydroxycholecalciferol as a dietary replacement of vitamin D_3 to improve egg shell calcification. Poultry Sci. 54:1788. (Abstr.).

Mayes, F. J., and M. A. Takeballi, 1984. Storage of the eggs of the fowl (*Gallus domesticus*) before incubation: a review. World's Poultry Sci. J. 40:131-140.

McDaniel, G. R., D. A. Roland, Sr., and M. A. Coleman, 1979. The effect of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality. Poultry Sci. 58:10-13.

McDonald, M. W., and R. G. Beilharz, 1962. Genetic variation in calcium metabolism in poultry. Pages 88-91 in: Proceedings XIIth World's Poultry Congress. Mexico City, Mexico.

McLoughlin, C. P., and J. H. Soares, Jr., 1976. A study of the effects of 25-hydroxycholecalciferol and calcium source on egg shell quality. Poultry Sci. 55:1400-1410.

Mehring, A. L., and H. W. Titus, 1964. The effect of low levels of calcium in the diet of laying chickens. Poultry Sci. 43:1405-1414.

Miles, R. D., P. T. Costa, and R. H. Harms, 1983. The influence of dietary phosphorus level on laying hen performances, egg quality, and various blood parameters. Poultry Sci. 62:1033-1037.

Mo, A., W. Yao, C. Li, X. Tian, M. Su, Y. Ling, Q. Zhang, R. B. Setterberg, and W. S. Jee, 2002. Bipedal stance exercise and prostaglandin E2 (PGE2) and its synergistic effect in increasing bone mass and in lowering the PGE2 dose required to prevent ovariectomized-induced cancellous bone loss aged rats. Bone 31:402-406.

Mongin, P. 1968. Role of acid-base balance in the physiology of egg shell formation. World's Poultry Sci. J. 24:200-230.

Mykkanen, H. M., and R. H. Wasserman, 1980. Enhanced absorption of calcium by casein phosphopeptides in rachitic and normal chicks. J Nutr. 110: 2141-2148.

National Research Council, 1962. Nutrient requirements of poultry, 4th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

National Research Council, 1966. Nutrient requirements of poultry, 5th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

National Research Council, 1971. Nutrient requirements of poultry, 6th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

National Research Council, 1994. Nutrient requirements of poultry, 9th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Norman, A.W. and R.G. Wong 1972. Biological activity of the vitamin D metabolite 1,25-dihydroxycholecalciferol in chickens and rats. J. Nutr. 102:1709-1718.

Ousterhout, L. E., 1980. Effects of calcium and phosphorus levels on egg weight and egg shell quality in laying hens. Poultry Sci. 59:1480-1484.

Pourreza, J., N. Nili, and M. A. Edriss, 1994. Relationship of plasma calcium and phosphorus to the shell quality of laying hens receiving saline drinking water. Br. Poultry Sci. 35:755-762.

Reynard, M., and C. J. Savory, 1999. Stress-induced oviposition delays in laying hens: duration and consequence of eggshell quality. Br. Poultry Sci. 40:585-591.

Robertson, I. S., 1961. The influence of turning on the hatchability of hens eggs. I. The effect of rate of turning on hatchability. J. Agric. Sci.

57:49-56.

Roland, D. A., Sr., 1977. The extent of uncollectable eggs due to inadequate shell. Poultry Sci. 56:1517-1521.

Roland, D. A., Sr., 1986. Egg shell quality Ⅲ: Calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorn. World's Poultry Sci. J. 42:154-165.

Roland, D. A., Sr., 1988. Egg shell problem : estimates of incidence and economic impact. Poultry Sci. 67:1801-1803.

Romanoff, A. L., and A. J. Romanoff, 1972. Pathogenesis of the Avian Embryo. Wiley-Interscience, New York, NY.

Roque, L., and M. C. Soares, 1994. Effects of eggshell quality and broiler breeder age on hatchability. Poultry Sci. 73:1838-1845.

Roush, W. B., M. Mylet, J. L. Rosenberger, and J. Derr, 1986. Investigation of calcium and available phosphorus requirements for laying hens by response surface methodology. Poultry Sci. 65:964-970.

Ruiz, J., and C. A. Lunam, 2002. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. Poultry Sci. 43:374-383.

Sahin N., K. Sahin, and M. Onderci, 2003. Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japaness quails. Bio. Trace Elem. Res. 96:179-189.

Sato, R, T. Noguchi, and T. Naito, 1983. The necessity for the phosphate portion of casein molecules to enhance Ca absorption from the small intestine. Agric Biol Chem. 47:2415-2417.

Scott, M. L., M. C. Nesheim, and R. J. Young, 1982. The vitamins. pp 119-276. in: Nutrition of the chicken. 3rd ed., Scott, M. L. and associates. Ithaca, NY.

Shafey, T. M., M. W. McDonald, and R. A. E. Pym, 1990. The effect of dietary calcium upon growth rate, food utilization and plasma constituents in lines of chickens selected for aspects of growth or body composition. Br. Poultry Sci. 31:577-586.

Soares, J. H. Jr., J. M. Kerr, and R. W. Gray, 1995. 25-hydroxycholecalciferol in poultry nutrition. Poultry Sci. 74:1919-1934.

Soares, J. H. Jr., C. M. McLoughlin, M. R. Swerdel, and E. Bossard, 1976. Effects of hydroxy vitamin D metabolites on the mineralization of egg shells and bones. Pages 85-92 in: Proceedings of the Maryland Nutrition Conference. Washington, DC.

Stevens, V. I., R. Blair, R E. Salmon, and J. P. Stevens, 1984. Effect of varying levels of dietary vitamin D_3 on turkey hen egg production, fertility and hatchability, embryo mortality and incidence of embryo malformations. Poultry Sci. 63:760-764.

Sugano, M., T. Fujikawa, Y. Hiratsuji, K. Nakashima, N. Fukuda, and Y. Hasegawa, 1980. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. Am. J. Clin. Nutr. 33:787-793.

Sunde, M. L., C. M. Turk, and H. F. DeLuca, 1978. The essentiality of vitamin D metabolites for embryonic chick development. Science. 200:1067-1069.

Suzuki, K., Y. Okawa, K. Hashimoto, S. Suzuki, and M. Suzuki., 1984. Protecting effect of chitin and chitosan on experimentally induced murine candidiasis. Microbiol. Immunol. 28:912-930.

Tarasewicz, Z., A. B. Ramisz, D. Szczerbinska, A. Danczak, A. Ramisz, and B. Pilarczyk, 2003. Effects of chitosan on selected production characteristics and hatching success of the

Pharaoh quail. Elect. J. Poland Agri. Univ. 6:2.

Tsutsumi, N., 1995. Effects of coumestrol on bone metabolism in organ culture. Biol. Pharm. Bull. 18:1012-1015.

Vo, K. V., A. Adefope, and T. Wakefield, Jr, 1994. Effect of dietary protein restriction and sulfur amino acid supplementation on reproductive efficiency of brow-egg type layers. Poultry Sci. 73(suppl. 1):163 (abstr.)

Waddell, A. L, R. G. Board, V. D. Scott and S. G. Tullett, 1991. Role of magnesium in egg shell formation in the domestic hen. Br. Poultry Sci. 32:853-864.

Walter, E. D., and J. R. Aitkin, 1962. Phosphorus requirement of laying hens confined to cages. Poultry Sci. 41:386-392.

Warren, D. C., and R. L. Schnepel, 1940. The effect of air temperatures on egg shell thickness in the fowl. Poultry Sci. 19:67-72.

Weiner, M. L., 1992. An overview of the regulation status and of the safety of chitin and chitosan as food and pharmaceutical ingredients. Advances in chitin and chitosan. Elsevier applied science. p 663.

Wilson, H. R., 1997. Effects of maternal nutrition on hatchability. Poultry Sci. 76:134-143.

Yoselewitz, I., and D. Balnave, 1989. Egg shell quality responses of pullet given saline drinking water at different ages. Br. Poultry Sci. 36:715-718.

김기영, 김상범, 임종우 2004. 홍화씨 Yoghurt 급여가 난소절제 Rat의 골다공증에 미치는 영향. 동물자원지. 46:69-76.

김창혁, 오덕환, 채병조 2001. 키토산 및 녹차 첨가가 산란계의 생산성, 소화율 및 혈액과 계란의 콜레스테롤 함량에 미치는 영향. 한국가금학회지 28:275-281.

서현주, 김준환, 곽동윤, 전선민, 구세광, 이재현, 문광덕, 최명숙 2000. 늑골 골절을 유도한 흰쥐에서 홍화씨 분말 및 분획들의 급여가 골절 회복중 골조직에 미치는 영향. 한국영양학회지. 33:411-420.

송해룡, 나도경, 김곤섭, 장기철, 황재민, 연성찬, 박형빈, 최상원 2002. 가토의 대퇴골 골결손시 홍화씨 분말 및 마타이레시놀 투여가 신생골형성에 미치는 영향. 대한골절학회지. 15:97-104.

우상원, 신승철, 김성권, 김은집, 안병기, 강창원 2003. 케이지 내 사육밀도가 산란종계의 생산성 및 생리적 반응에 미치는 영향. 한국가금학회지. 30:83-90.

한국사양표준 가금 2002. 농림부, 농촌진흥청축산진흥연구소. 26-32.