



한국 재래계에서 초기 성장에 따른 소화기관 발달, 소장 미세융모의 소화 효소 및 간조직의 항산화 효소 발현

남근희^{1*} · 이영빈^{1*} · 손시환² · 장인석^{2†}

¹경상국립대학교 농업생명과학대학 동물생명융합학부 대학원생, ²경상국립대학교 농업생명과학대학 동물생명융합학부 교수

Early Development of Digestive Organs, Intestinal Microvilli Digestive Enzymes, and Hepatic Antioxidant Enzymes after Hatching in Korean Native Chicks

Geun-Hui Nam^{1*}, Young-Bin Lee^{1*}, Sea-Hwan Sohn² and In-Surk Jang^{2†}

¹Graduate Student, Division of Animal Bioscience and Integrated Biotechnology, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

²Professor, Division of Animal Bioscience and Integrated Biotechnology, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

ABSTRACT The study was conducted to examine age-related development of digestive organs, intestinal microvilli hydrolyase, and hepatic antioxidant enzyme in Korean native chicks (KNC) aged from 0-d to 28-d of post-hatching. Body weight did not significantly increase from 0-d to 3-d-old, but after that remarkably increased from 3-d to 28-d-old ($P<0.05$). The relative weight (g/100 g of BW) of the proventriculus, gizzard, and liver was significantly higher at 3- and 7-d-old chicks than that of the other ages. The relative weight of the intestine, mucosal tissues, and pancreas was markedly developed at the ages of 3-, 14-, and (or) 21-d-old chicks ($P<0.05$). In the small intestine, the specific activities of maltase and sucrase were significantly higher at 14-d-old compared with the other ages ($P<0.05$). Leucine aminopeptidase activity showed a constant level from 0- to 28-d-old without significance. The specific activity of alkaline phosphatase was significantly higher at 0-d-old compared with the other ages ($P<0.05$). In the liver, the specific activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and glutathione S-transferase were shown to be lowest at 0-d-old, but they continued to increase as the age increased. The lipid peroxidation was significantly high at the age of 21-d ($P<0.05$), after that its level decreased at 28-d old. In conclusion, the KNC rapidly developed digestive organs and intestinal microvilli hydrolase activity from 3- to 14-d-old after hatching. Hepatic antioxidant enzyme activity continued to increase as the age increased after hatching, resulting in 28-d-old chicks showing the highest antioxidant enzyme activity in the KNC.

(Key words: Korean native chicks, digestive organs, intestinal microvilli hydrolase, antioxidant enzymes)

서 론

닭은 부화 전후로 장기 조직이 발육 단계에서 매우 큰 차이가 보이며 태아 발생기부터 부화 후 생명현상을 유지하기 위해 다양한 생리적 적응성 변화가 발생한다(Yigit et al., 2014; Lilburn and Loeffler, 2015). 닭의 소화기관 발달은 유전, 영양 및 환경 등 다양한 요인에 의해 조절되며(Lilburn and Loeffler, 2015), 부화 직후에는 난황 줄기에서 소장을 통해 소화기관과 체 조직의 발육에 필요한 영양소를 얻는다(Sklan, 2001). 병아리는 부화 후 72시간 동안은 난황에서 소화기관의 발달에 필

요한 영양소를 얻지만(Noy and Sklan, 2001), 7일령 후 난황이 체중의 0.4% 이하로 감소하므로 사료 섭취를 통해 영양소를 얻게 된다(Murakami et al., 1988). 부화 3일령 이후 사료를 통해 영양소를 얻는 적응성 변화가 진행되며 소화기관의 형태와 기능에 급격한 변화가 발생한다(Sklan, 2001). 따라서 부화 직후 첫 주는 소화기관이 급격히 변화되는 시기로서 닭의 성장에 결정적 영향을 미친다(Iji et al., 2001a).

닭의 일령별 신체 발육 과정 동안 부화 직후에는 체중의 증가보다 소화기관의 발달이 매우 빠른 시기로서, 병아리는 6~10일령에 급격한 소장, 췌장과 간의 발달이 진행된다(Nitsan et

* The authors contributed equally to this work.

† To whom correspondence should be addressed : ijang@gnu.ac.kr

al., 1991b; Sklan, 2001). 따라서 부화 직후 초기 성장단계에서 소화기 발달은 닭의 영양 대사 작용에 큰 영향을 미치므로 닭의 성장에서 가장 중요하다(Liburn and Loeffler, 2015). 닭의 소화기관 발달은 품종에 따른 유전적 특성이 매우 중요한 요인으로 작용한다. Nitsan et al.(1991b)은 대형종과 소형종의 체 성장과 소화기 발달과의 상관관계를 조사한 결과, 대형종은 배아 발생단계에서 소화기 발육이 높지만, 8일령 이후에는 소형종에 비해 발달률이 감소하는 것으로 보고하였다. 육계는 부화 후 2주까지 최대 성장이 진행되므로 이 시기 소화기 발달이 생산성에 가장 중대한 영향을 미친다(Nitsan et al., 1991a). 품종에 따른 유전적 특성과 더불어 닭의 소화기관 발달은 급여하는 사료(Nir et al., 1993), *in ovo*와 부화 후 위장관에 존재하는 미생물 등 다양한 환경 요인에 의해서도 현저한 영향을 받는다(Nahashon et al., 1996; Muyyarikkandy et al., 2023). 소화기관의 형태와 기능적 발달은 동시에 일어나는데 대체로 소화기의 형태학적 발육이 증가하면 소화 효소의 분비와 활성이 증가한다(Lilburn and Loeffler, 2015). 이는 소화기관의 효소 활성도가 증가하면 성장이 왕성한 시기에 체 성분 합성에 필요한 영양소를 최대 흡수할 수 있기 때문이다(Sklan, 2001). 연구 결과 소장의 흡수세포에 존재하는 maltase와 aminopeptidase 등의 총 활성도는 일령에 따라 증가하지만, 특이적 활성도는 1~7일령에서 최대 활성도를 보이고 그 후 점차 감소하였다(Iji et al., 2001b). 닭에서 일령별 췌장 효소의 발현 역시 효소 종류, 유전 및 환경 요인 등에 따라 차이를 보이는데 대체로 부화 후 약 9일령에서 정도에서 소장으로 분비되는 활성도가 최대에 이른다(Nitsan et al., 1991a; Nir, 1993).

닭에서 체 조직을 보호하는 항산화 효소는 부화 전후 소장, 간 등 모든 장기 조직에 잘 발현된다(Surai et al., 2019). 항산화 작용은 닭의 연령, 유전, 질병, 영양, 환경 등 다양한 내외적 요인에 의해 영향을 받으며 활성산소로부터 체 조직을 보호하는 작용으로 닭의 건강에 큰 영향을 미친다(Surai et al., 1999, 2019). 특히 급격한 성장과 대사 작용이 일어나는 부화 전후와 육성기에 과도한 산화 스트레스가 유발됨으로 이 단계에서 항산화 효소의 발현은 체 항상성 유지에 매우 중요하다(Yang et al., 2018; Surai et al., 2019). 그러나 닭에서 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GPX) 등과 같은 항산화 효소 발현 연구는 조직의 분화가 왕성하고 산소 요구량이 높은 배아 발생기에 집중되어 있다(Surai, 1999; Yigit et al., 2014; Yang et al., 2018). 실제 부화 직후 내외적 스트레스에 노출되며 급격한 초기 성장이 진행되는 병아리의 항산화 방어작용에 관한 조사는 매우 드문 실정이다. 최근 닭은 근육 성장 위주로 육종되어 대사 작용에 따른 체내 산소 요구량 증가로 과도한

활성산소 발생으로 건강에 심각한 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Julian, 2005). 특히 한국 재래계는 고도로 육종된 산란계 또는 육계와는 품종 차이에 따라 일령별 항산화 방어작용에서 유의미한 차이가 나타날 수 있다(Kim et al., 2021).

따라서 본 연구는 한국 재래계 병아리의 부화 직후 초기 성장단계(0~28일령)에서 소화기관의 형태적 변화, 소장 미세용모의 소화 효소 및 간 조직의 항산화 효소의 변화를 조사하여 최적 사양관리 체계 구축에 필요한 기초 생리적 자료를 얻기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 사양관리

본 연구는 동물실험윤리위원회의 승인(GNU-230711-C0147)을 받고, 이의 규정을 준수하여 동물실험을 수행하였다. 한국 재래계(Korean native chicken)의 종계로부터 부화 직후 0, 3, 7, 14, 21 및 28일령의 36수(n=6) 병아리를 실험계로서 사용하였다. 사양관리 방법으로서 부화 직후 병아리는 케이지에서 1일간 음수만 공급하고 2일째부터 초생추 사료를 소량씩 자유급이 하였다. 실험계사의 온도는 33℃에서 22℃까지 계사 사육실 온도관리 지침에 따라 조절하였다. 기타 상세한 사양관리는 경상국립대학교 종합농장의 관행적 사양방법을 준수하였다.

2. 분석 방법

1) 조직 채취 및 전처리

부화 직후 0~28일령의 병아리를 케이지에서 사육하며 각 일령별 실험계는 3시간 절식 후 체중을 측정하고 에테르 마취와 경정맥 절개로 안락사를 실시 한 후 선위, 근위, 소장, 췌장 및 간 등을 채취하였다. 선위와 근위에 해당하는 부위를 절제한 후 생리식염수로 3회 연속으로 세척하여 내용물을 제거하였다. 소장은 근위 아래부터 결장 앞까지 소장 전체 부위를 채취하였다. 소장 전 부분의 장간막 지방을 제거하고 생리식염수로 3회 세척 후 내용물을 제거하였다. 소장은 절개 후 glass slide을 이용하여 점막 세포를 분리하고 일정량의 생리식염수를 혼합하여 5,000 rpm에서 원심분리(Vision, VS-15,000 CF) 후 점막 세포를 세척하였다. 획득한 모든 장기는 무게를 측정하고 간 및 소장점막은 액체질소에 급랭한 후 -70℃에서 분석 시까지 냉동 보관하였다.

2) 소장 점막조직의 소화 효소 활성도 분석

소장 전 부위에서 채취한 점막조직을 mannitol buffer

(150 mM mannitol, 10 mM tris base, 30 mM succinate, 5 mM K_2HPO_4 ; pH 7.4)로 적정 비율로 혼합하여 균질화(Omni tissue homogenizer, Omni Int. NW, USA) 하였다. 점막의 미세용모 구성 성분으로 존재하는 효소를 분리하기 위해 2% triton X-100을 1:1 비율로 혼합한 시료를 2시간(25°C) 저장한 후 5,000 rpm(4°C)에서 원심분리하여 상청액을 효소 활성도 분석에 사용하였다. 이당류 분해 효소인 maltase와 sucrase는 Dahlgvist(1968)의 방법을 ELISA reader에 적용하여 최종 분해 산물(glucose)은 Sigma glucose assay kit로 분석하였다. Leucine aminopeptidase(LAP) 활성도는 Gal-Garber and Uni(2000)의 방법으로 leucine p-nitroaniline를 기질로 사용하여 405 nm에서 ELISA reader로써 측정하였다. Alkaline phosphatase(ALP)는 ALP assay kit(Abcam, Cambridge, UK)를 이용하여 일정 비율의 점막조직 균질액을 p-nitrophenyl phosphate(pNPP) 용액과 혼합하여 발색 반응을 실시하였다. 다음으로 stop 용액을 첨가하여 ELISA reader(V_{Max} , Molecular Devices, CA, USA)로써 405 nm에서 흡광도를 측정하여 ALP 활성도를 계산하였다. 단백질 분석은 Pierce BCA protein(Assay kit 23225, Thermo, MA, USA) kit로 570 nm에서 ELISA reader로 측정하였다. 효소의 특이적 활성도(specific activity)는 전체 활성도에서 단백질 mg당 농도로 나누어 표기하였다.

3) 간 조직에서 항산화 효소 활성도 및 지질 과산화 분석

간 조직의 cytosol 분획은 Xia et al.(1995)의 방법에 따라 수행하였다. 간단히 방법을 기술하면, 간 조직과 isolation buffer(0.32 M sucrose, 0.001 M EDTA 및 0.01 M Tris-HCl)를 1:5 비율로 혼합하여 1분간 균질화하고 13,600 ×g에서 30분 원심분리하였다. 상청액에서 항산화 효소 및 지질 과산화 수준을 조사하기 위해 분석 전까지 액체질소에 급속 동결하여 -70°C에 보관하였다. Superoxide dismutase(SOD) 활성도는 SOD assay kit(Cayman, Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 kit 분석 방법에 따라 측정하였다. 희석한 간 cytosol에 radical detector와 xanthine oxidase를 혼합하고 실온에서 30분 동안 incubation 하였다. 분석은 ELISA reader(V_{Max} , Molecular Devices, CA, USA)로써 450 nm에서 측정하여 활성도를 계산하였다. 그 외 상세한 방법은 kit에 제시한 방법에 따라 분석하였다. 단윗값은 SOD 활성도를 50% 저해하는 값을 1 unit로 정의하였다. Glutathione peroxidase(GPX) 활성도는 Tappel et al.(1978)의 방법에 따라 실시하였다. 방법을 간단히 기술하면, 시료에 반응용액(0.1 mM NADPH, glutathione reductase 1 unit/mL, reduced glutathione, 0.25

mM; pH 7.4)을 첨가 후 5분간 37°C incubator에서 저장하고 H_2O_2 를 첨가하여 분광 광도계(Ultrospec 2100 pro, Biochrom, USA)로써 340 nm에서 흡광도의 감소 속도를 측정하였다. GPX 활성도 unit는 단백질 mg당 1분 동안 산화되는 NADPH nmol 수로 정의하였다. Glutathione S-transferase (GST)는 1 mM reduced glutathione을 chlorodinitrobenzene (CDNB) 희석한 시료를 가한 후 340 nm에서 흡광도의 변화 비율을 측정하였으며, 1 unit는 mg protein 당 1분간 반응하는 CDNB의 μ mol 수로 표시하였다(Habig et al., 1974). 지질 과산화물은 thiobarbituric acid 방법에 의해 생성된 malondialdehyde(MDA)량을 분광광도계로서 532 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다(Bidlack and Tappel, 1973). 효소의 특이적 활성도는 전체 활성도에서 단백질 mg당 농도로 나누어 표기하였다.

3. 통계분석

닭의 일령별 체중, 소화 장기 무게 및 각종 효소 활성도 변화는 PASW Statistics 18(SPSS)을 이용한 one-way ANOVA를 실시하였다. 95% 수준에서 유의차가 인정되면 닭의 일령별 차이는 Tukey 방법에 따라 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였으며 결과값은 평균±표준편차로 표기하였다.

결과 및 고찰

1. 체중, 증체 및 소화기관의 형태적 변화

한국 재래계 병아리에서 일령에 따른 체중과 증체량의 발달을 살펴보면(Fig. 1), 부화 후 0~3일령까지 유의적 차이가 없었지만($P < 0.05$), 그 이후 28일령까지 매주 체중과 증체량 모두 현저히 증가하였다($P < 0.05$). 병아리의 소화 장기의 전체 무게(total weight, g)와 상대적 무게(g/100 g BW)는 Fig. 2에 나타내었다. 선위, 근위, 소장, 간, 췌장 등의 전체 무게는 일령간 비교 시 28일령까지 지속해서 증가하였으나, 유의적 수준에는 다소 차이가 있었다. 먼저 선위 및 췌장 전체 무게는 0~21일령까지 일령이 증가할수록 매 일령 구간에 유의하게 증가하였으나($P < 0.05$, Figs. 2A and 2F), 21일령과 28일령 간에는 차이가 없었다. 근위, 소장 및 간의 무게는 0~28일령까지 조사 일령 구간에 지속적으로 현저하게 증가하였다($P < 0.05$, Figs. 2B, 2C and 2E). 체중에 따른 상대적 장기 무게의 변화를 살펴보면, 선위, 근위 및 간의 상대적 무게는 3~7일령에서 최대 증가를 보였고($P < 0.05$), 그 이후 28일령까지 조금씩 감소하는 것으로 나타났다(Figs. 2A, 2B and 2E). 소장, 점막 세포 및 췌장의 상대적 무게는 3~21일령에서

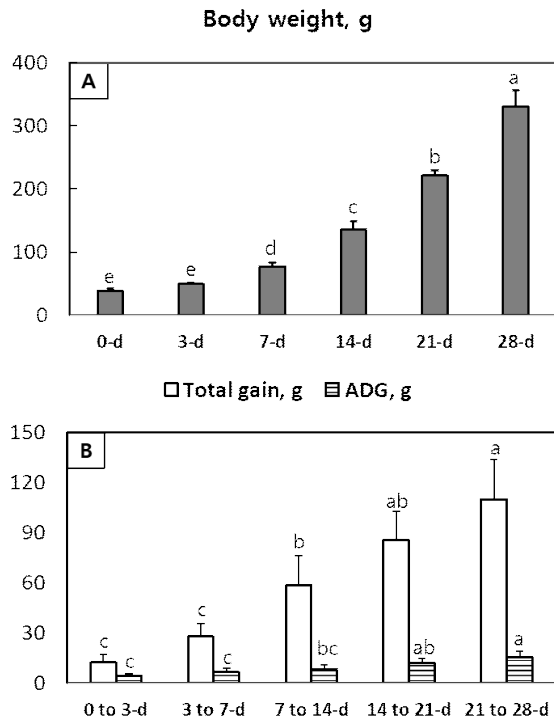


Fig. 1. Age-related changes in the development of body weight (A ■), total gain (B □), and average daily gain (B ▨) in Korean native chicks aged 0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d, and 28-d after hatching. ^{a-c} Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among ages (Mean±S.D., $n=6$).

최대 발달률을 보였다(Figs. 2C, 2D and 2E). 특히 소장 점막 세포량의 상대적 무게는 부화 후 3일령부터 현저히 증가하여 ($P<0.05$) 14일령에 최대 발달률을 보였고 28일령에는 다시 유의하게 감소하였다($P<0.05$, Fig. 2D). 소장, 점막 세포, 간 및 췌장의 상대적 무게는 0일령에서 가장 낮았고(Figs. 2C, 2D, 2E and 2F), 선위와 근위의 상대적 무게는 28일령에서 가장 낮은 결과를 보였다(Figs. 2A and 2B). 대부분의 소화기관의 상대적 장기 무게는 21일령과 28일령 간에는 차이가 없었다.

닭은 부화 후 체중 증가와 함께 위장관의 형태와 기능이 급격히 발달하는데 체 성분을 합성하기 위해 필요한 영양소를 흡수하는 소장이 가장 급격하게 발달한다(Nitsan et al., 1991a). 여러 품종의 병아리에서 선위와 근위의 체중에 대한 상대적 발달은 부화 직후 3일령에 최대 발달률을 보였으며 (Nitsan et al., 1991b), 본 연구 결과 한국 재래계에서도 이와 정확하게 일치한다. Sklan(2001)에 연구에 의하면, 소장은 자연발생적으로 유전적 소인에 의해 급격하게 발달하지만 섭취하는 사료의 영양소에 따라 발달 정도가 크게 영향을 받는 것으로 보고하였다. 부화 직후 소장은 난황으로부터 성장에

필요한 영양소를 흡수하여 체내 공급하지만(Jin et al., 1998; Sklan, 2001), 3일령 이후에는 섭취하는 사료로부터 영양소를 흡수하여 공급함으로 소장의 발육이 급격히 이루어진다(Kim et al., 2021). 본 연구 결과 일령 증가에 따라 위장관의 급격한 외형적 발달이 진행되며, 특히 3~7일령에서 상대적 발달률이 가장 높았고 14일령까지 지속적으로 발달하였다. 이러한 결과는 White Leghorn에서 일령에 따른 소화기관의 변화를 조사한 연구에서 소장 무게, 길이 및 점막 세포의 발달이 7일령에서 상대적 발달이 가장 높았던 사실과도 일치한다(Kim et al., 2021). 또한 육계(Ross와 Steggle F1)도 체중에 따른 상대적 소장 무게와 점막 단백질의 발달이 7일령에서 가장 높았으며(Iji et al., 2001a), 대부분의 품종에서 부화 후 7일 동안이 소장 발달에 가장 중요한 기간으로서 닭의 생산성에 큰 영향을 미치는 시기로 판단된다.

췌장은 탄수화물, 단백질 및 지방 등을 소화하는 효소의 분비기관으로 부화 후 3일령부터 조직의 발달이 급속히 진행되어 9일령에 최대 발달률을 보이고 그 후 21일령까지 서서히 진행되는 것으로 알려져 있다(Oakberg, 1949; Nitsan et al., 1991ab). Kim et al.(2021)은 White Leghorn에서 부화 직후 췌장의 상대적 무게를 조사한 결과 3일령 이후 급속히 발달하여 7~14일령까지 최대 발달이 지속된다고 보고하였다. Uni et al.(1995)도 병아리에서 췌장의 발달은 3일령부터 급속히 이루어져 7일령~14일령까지 최대로 발달한다고 보고하였다. 본 연구 결과에서 한국 재래계에서도 췌장의 상대적 발달률이 7~21일령에서 최대로 발달하는 것으로 다른 품종들과 유사한 경향을 보였다.

간은 영양소 대사, 지방 합성 및 이물질 해독작용에 중요한 역할을 하는 부 소화기관으로서 닭에서는 대부분의 체지방 합성이 간에서 이루어진다(Richard, 2005; D'Andre et al., 2013). 여러 품종의 닭에서 간 무게의 발달을 조사한 결과, 3~9일령에서 상대적 간의 무게가 증가하는 것으로 나타났다(Nitsan et al., 1991ab). 본 연구 결과 한국 재래계에서도 상대적 간의 무게는 3~7일령에서 가장 높았고 14일령부터는 감소하여 타 품종의 경향과 유사하였다.

2. 소장 미세융모의 Brush Border 효소 특이적 활성화도 변화

한국 재래계 병아리 부화 직후 일령 변화에 따른 소장 미세융모의 이당류 분해효소(maltase 및 sucrase), LAP 및 ALP의 특이적 활성화도 변화는 Fig. 3에 제시한 바와 같다. Maltase와 sucrase 특이적 활성화도는 부화 직후 0 및 3일령에서 높게 유지되었으며 14일령에서 최대 활성화도를 보였다

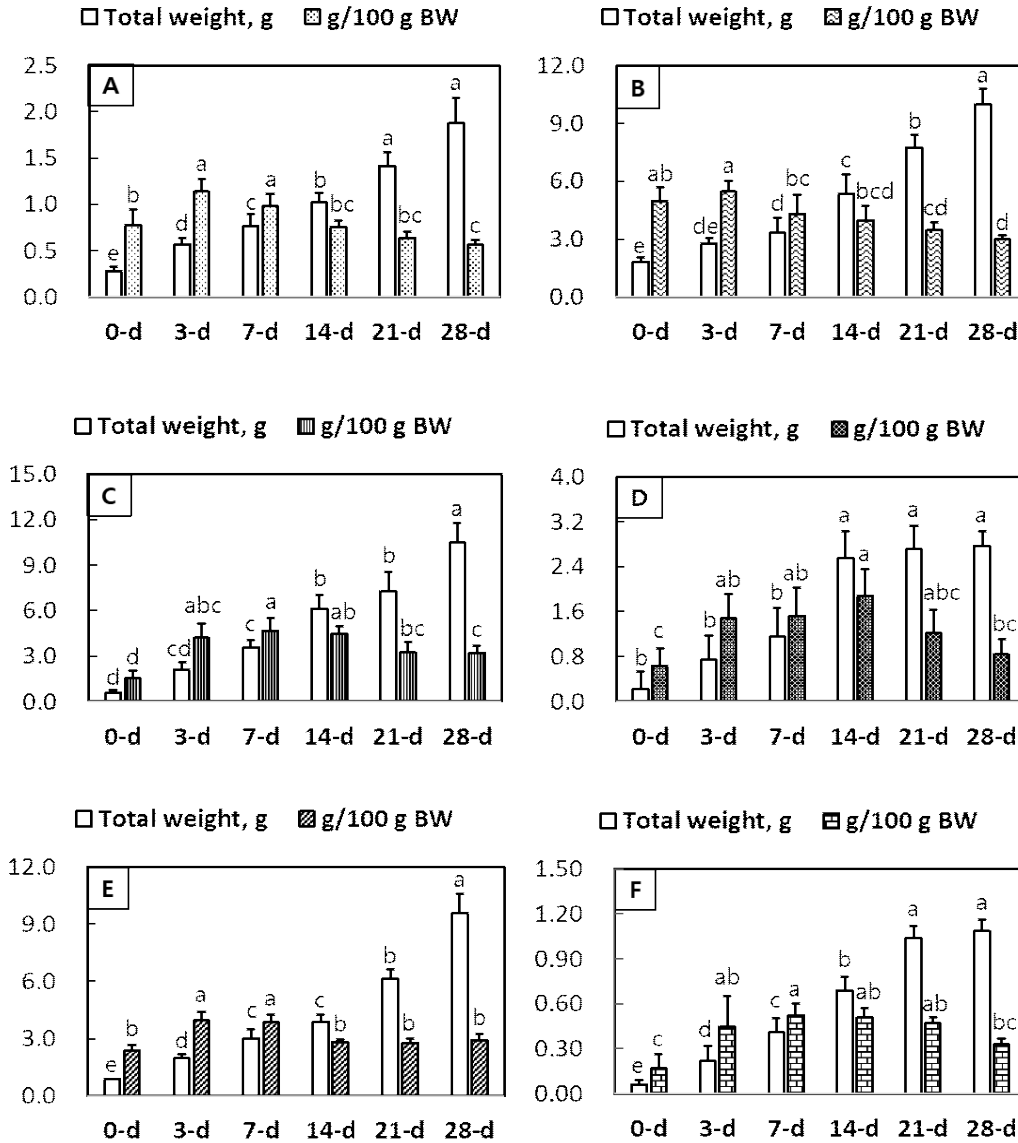


Fig. 2. Age-related changes in the development of the weights of total and relative (g/100 g BW) digestive organs (A: proventriculus, B: gizzard, C: intestine, D: intestinal mucosal tissues, E: liver, and F: pancreas) in Korean native chicks aged 0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d, and 28-d after hatching. ^{a-e} Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among ages (Mean \pm S.D., n=6).

($P<0.05$, Figs. 3A and 3B). 그 이후 이들의 효소 활성도는 28일령까지 일정 수준이 유지되었다. LAP 특이적 활성도는 0~28일령까지 유의적 차이 없이 일정하게 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 3C). ALP 활성도는 부화 직후 0일령에서 유의적으로 가장 높은 수준을 보였고($P<0.05$), 그 이후 28일령까지 변화 없이 일정 수준의 활성도를 유지하였다(Fig. 3D). 한편 효소의 특이적 활성도는 동량의 단백질(mg protein)로 환산하여 일령별 차이가 나타났지만, 실제 일령 증가에 따라 소장 점막 세포량이 증가하므로 소장에서 흡수되는 영양

소의 총량은 28일령에서 가장 높을 것으로 판단된다.

병아리는 부화 직후 난황에서 영양소를 얻는 방법으로부터 사료에서 영양소를 섭취하여 방법으로 전환되는 시기로 소화 생리적으로 큰 변화와 스트레스가 유발된다. 본 연구는 한국 재래계에서 부화 후 일령별로 소장의 기능적 변화를 조사하기 위해 미세음모 구성 성분으로 소화작용과 흡수세포 분화에 관련된 효소 활성도를 조사하였다. 본 연구에서 소장점막의 maltase와 sucrase 특이적 활성도는 부화 직후 0 및 3일령부터 비교적 높게 유지되고 14일령에서 최

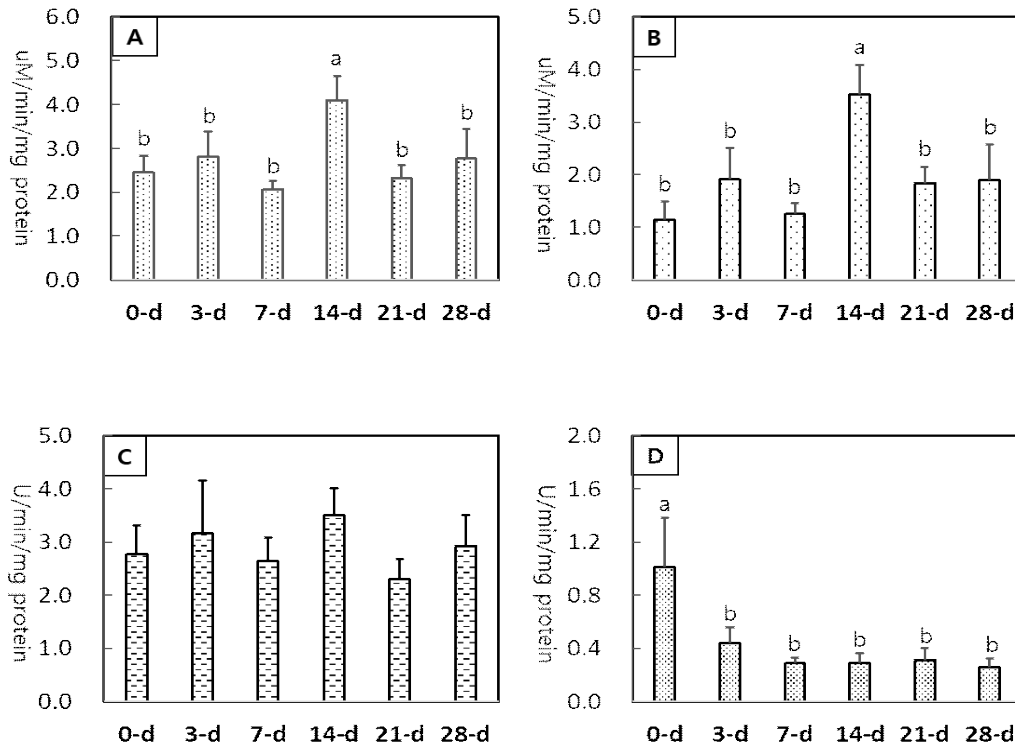


Fig. 3. Age-related changes in the specific activity of intestinal microvilli hydrolase (A: maltase, B: sucrase, C: leucine aminopeptidase, and D: alkaline phosphatase) in the small intestine of Korean native chicks aged 0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d, and 28-d after hatching. ^{a,b} Values with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$) among ages (Mean±S.D., n=6).

대 활성도를 보였다. 이러한 결과는 산란계 병아리에서 3~14일령까지 높은 maltase와 sucrase 활성도를 나타낸다고 보고한 Kim et al.(2021)의 결과와 유사하다. Sell et al.(1989)도 isomaltase 활성도가 부화 후 7~14일령까지 뚜렷하게 증가하고 다시 서서히 감소하지만 28일령까지 비교적 높은 활성도가 유지되었다고 보고하였다.

소장의 이당류 분해 효소는 미세융모의 구성 성분으로 탄수화물의 소화작용과 밀접한 연관이 있는데, 고수준의 탄수화물 사료를 섭취하는 닭에서 maltase와 sucrase의 활성도가 증가한다(Sell et al., 1989). 육계와 산란계에서 부화 후 3일령에서 소장 포도당 운반단백질(SGLU1) mRNA 발현이 현저히 증가하였다는 연구 결과(Li et al., 2020)로 보아 탄수화물의 섭취와 이당류 분해 효소 활성도의 최대 발현 시기와 일치한다. 그러나 부화 직후 탄수화물을 섭취하지 않은 상태에서도 이당류 분해효소가 상당히 활성화되는 사실로 보아 이미 배아 발생단계에서 이들 유전자의 상당량은 발현되는 것으로 보인다(Speier et al., 2012). 특히 부화 후 1일령에서 높은 maltase 활성도를 나타내고, 그 이후 6일령까지 감소한 다음 8일령에서 다시 증가한다고 보고한 Sell et

al.(1991)의 연구 결과가 이러한 사실을 뒷받침한다. Angel et al.(1990) 역시 소장 maltase 활성도는 부화 직후 1일령에서 최대 활성도를 나타낸 후 9일령까지 감소한 후 다시 44일령까지 증가하였다고 보고하였다.

소장 미세융모에 존재하는 펩타이드 분해효소로서 LAP 역시 부화 직후 효소 활성도가 매우 높게 유지되는 것으로 (Tarvid, 1992), 본 연구 결과와도 일치한다. Iji et al.(2001b) 역시 aminopeptidase와 dipeptidase 활성도는 부화 직후에도 활성도가 매우 높게 유지되며 1일령 병아리에서 aminopeptidase 활성도가 높고 21일령에서 오히려 활성도가 감소하였다고 보고하였다. 그러나 실제 닭에서 연령이 증가할수록 소장의 점막 세포량이 현저히 증가하기 때문에 절대적 peptidase 활성도는 증가한다(Tarvid, 1995; Sklan, 2001; Lilburn and Loeffler, 2015).

ALP 역시 미세융모의 구성 성분으로 일인산염 에스테르 (monophosphate ester) 가수분해 효소이며 소장의 미세융모의 crypt-villus 분화 지표로 알려져 있다(Alpers et al., 1994). ALP 발현은 상피세포의 발달 분화 단계, 영양, 염증 등 다양한 요인에 의해 영향을 받는데(Estaki et al., 2014), 닭에서

부화 직후 소장 of 적응성 발달에 중요한 지표이다(Noy and Sklan, 1998). 병아리의 배아 발육 9~18일째부터 ALP 발현이 활성화되며(Yoshimura et al., 2009), 부화 후 1일령에서 최대 활성도를 보인다고 알려져 있다(Iji et al., 2001b). 본 연구에서도 부화 직후(0일령) 가장 높은 ALP 활성도를 보이는 것은 선행 연구와 일치하며 이 시기에 급격하게 소장 용모의 발달 및 분화가 진행되는 것으로 판단된다.

이상의 결과 한국 재래계는 부화 후 3~14일령에서 소화기관의 발육과 소화 효소의 발현이 가장 급격히 진행되며 이러한 결과 28일령까지 높은 체중 증가로 나타났다. 소화기관의 발달과 소화 효소 활성도는 재래계에서 21일령까지도 활발하게 변화되는 시기로 판단된다. 또한 병아리 배아 발생 단계(10일령)부터 이미 소장 미세용모 효소와 영양소 운반단백질이 자연발생적 소인으로 발현되며(Matusushita et al., 1985; Speier et al., 2012), *in ovo* 단계 또한 병아리 발육에 매우 중요한 시기로 잘 알려져 있다(Speier et al., 2012). 따라서 본 연구 결과 부화 직후 14일령까지 소화기관의 형태와 기능 발달이 급격히 진행되는 시기로 이에 적합한 사료 개발과 정밀한 사양관리가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

3. 간 조직의 항산화 효소의 특이적 활성도 변화

한국 재래계 병아리에서 부화 후 일령에 따른 간 조직의 항산화 효소 활성도와 지질과산화도 변화는 Figs. 4 and 5에 각각 나타내었다. SOD 특이적 활성도는 0일령에서 가장 낮은 수준으로 발현되며, 3일령 이후 지속적으로 증가하여 28일령에서 가장 높은 활성도를 보였다($P<0.05$, Fig. 4A). 특히 28일령에서 0일령과 비교 시 2.43배 높은 SOD 활성도를 보였다. GPX 활성도 역시 0일령에서 가장 낮았고 3일령 이후 점진적으로 증가한 후 21일령 및 28일령에서 유의적으로 높은 활성도를 보였다($P<0.05$, Fig. 4B). 28일령의 GPX 활성도는 0일령과 비교 시 2.37배 정도 증가하였다. GST 활성도는 0일령에서 21일령까지 비슷한 수준으로 유지되었으나 28일령에서 유의하게 증가하였다($P<0.05$, Fig. 4C). CAT 활성도는 0일령부터 28일령까지 모두 비슷한 수준을 유지하며 일령별 차이가 없었다(Fig. 4D). 지질과산화도(MDA) 수준은 모든 일령에서 낮게 유지되었으나 21일령에서 일시적으로 증가한 후($P<0.05$), 28일령에서 다른 일령과 비슷하게 감소하였다(Fig. 5).

병아리는 배아 발생단계 및 부화 후 급격한 체 조직의 대

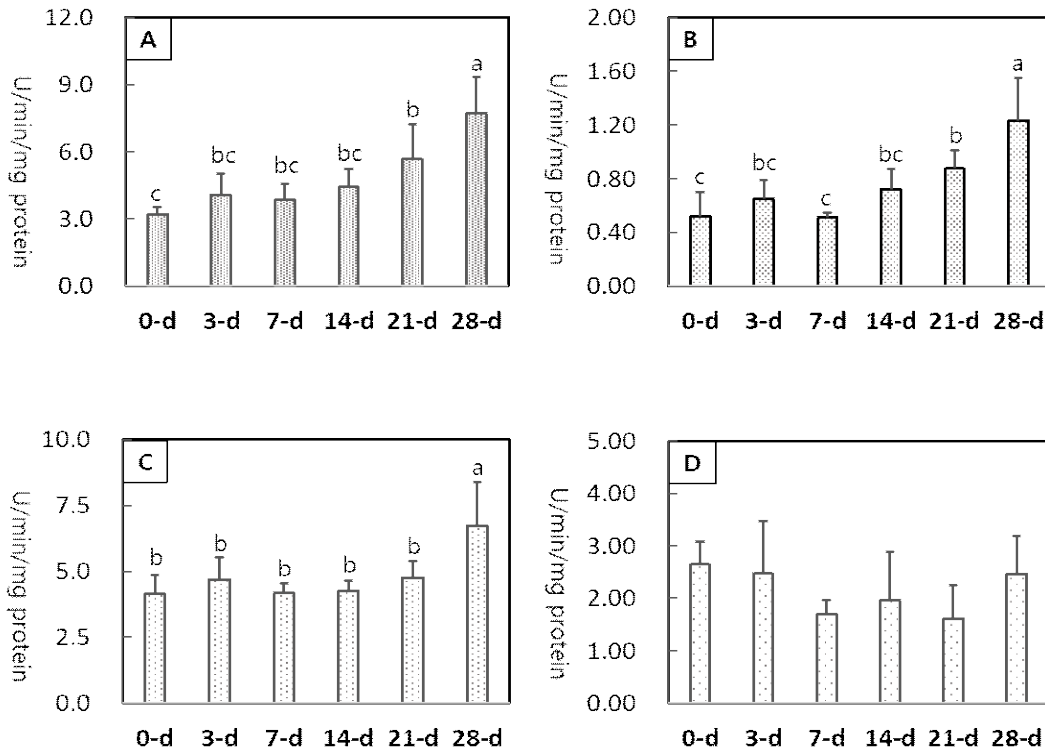


Fig. 4. Age-related changes in the specific activity of antioxidant enzymes (A: SOD, B: GPX, C: GST, and CAT) in the liver of Korean native chicks aged 0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d, and 28-d after hatching. ^{a,b} Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among ages (Mean±S.D., n=6).

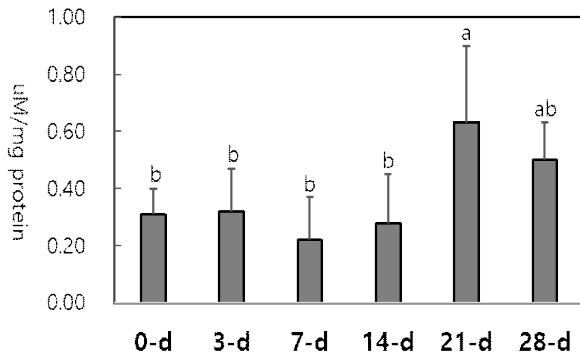


Fig. 5. Lipid peroxidation (malondialdehyde, MDA) level in the liver of Korean native chicks aged 0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d, and 28-d after hatching. ^{ab} Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among ages (Mean \pm S.D., $n=6$).

사 작용으로 생성되는 활성산소에 의해 심각한 산화 스트레스에 노출된다(Yang et al., 2018; Surai et al., 2019). 따라서 필연적으로 발생하는 산화 스트레스에 대응하기 위해 배아 발생단계 11일째 SOD가 최대로 발현되며 항산화 방어작용이 급격히 발달한다(Yigit et al., 2014). 닭은 부화 후 항산화 효소가 모든 장기 조직에 존재하지만 간, 심장 및 신장 등 내장기관에서 가장 활발하게 발현되며 항상성 유지에 중요한 역할을 한다(Surai, 1999). Tang et al.(2019)의 연구에 의하면 병아리는 부화 후 1주 동안 급격한 성장 발육에 따른 대사 작용으로 과도한 활성산소가 생성되므로 소장에서도 높은 수준의 SOD와 glutathione이 발현된다고 보고하였다. 최근에는 생산성 위주로 육종된 닭에서 고도의 성장에 따른 대사 작용으로 생성된 활성산소가 닭의 건강을 위협하고 있다(Surai et al., 2019). Milinkovic-Tur et al.(2009)의 연구에 의하면 2~6주령의 육계의 심장에서 항산화 지표를 조사한 결과, 주령이 증가할수록 지질과산화에 따른 산화적 스트레스가 심각한 것으로 나타났다. White Leghorn에서도 부화 직후부터 성장이 빠른 시기에 간 조직의 SOD, GPX 및 GST 활성도가 높게 유지되고 21일령까지 지속해서 증가하였다(Kim et al., 2021). 한국 재래계를 이용한 본 연구의 결과도 White Leghorn과 유사한 경향으로 간의 SOD와 GPX 활성도는 0일령에서 가장 낮았으나 21일령까지 지속해서 증가한 후 28일령에서 유의하게 높은 활성도를 보였다. Coudert et al.(2023)은 성장이 느린 닭의 품종에서는 SOD가 가장 중요한 항산화 방어작용에 관여하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 CAT 활성도는 0~28일령까지 모두 비슷한 수준을 유지하며 일령별 차이가 없었다. 이러한 결과는 저 수준의 H_2O_2 발생 시 활성화되는 GPX보다는 고수준의 H_2O_2 가 발

생되는 병태적 상황에서 주로 발현하는 CAT의 특성 때문인 것으로 보인다(Gebica and Krych-Madej, 2019).

결론적으로 한국재래계는 부화 후 초기 성장단계에서 급격한 소화기관의 형태와 기능의 발달(3~14일령)과 함께 급격한 성장이 이루어지며, 활발한 대사 과정에서 생성되는 활성산소 제거를 위한 항산화 작용이 28일령에서 가장 높게 나타났다. 따라서 한국재래계도 타 품종과 유사한 형태의 일령별 소화기 발달과 항산화 작용이 발현되는 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 한국 재래계에서 부화 후 일령(0-d, 3-d, 7-d, 14-d, 21-d 및 28-d)에 따른 소화 장기 발달, 소장 미세용모의 소화 효소 및 간 조직의 항산화 효소 변화를 조사하기 위하여 실시되었다. 병아리 일령에 따른 체중과 증체량은 부화 후 0~3일령까지는 유의적 차이가 없었지만, 3일령 이후 28일령까지 체중은 8.6배, 증체량은 281.2 g 증가하였다($P<0.05$). 근위, 소장 및 간의 무게는 0~28일령까지 현저하게 증가하고, 선위 및 췌장 무게는 21일령까지 증가하였다($P<0.05$). 체중에 따른 상대적 장기 무게에서 선위, 근위 및 간은 3~7일령에서 최대로 증가하였고($P<0.05$), 소장, 점막 세포 및 췌장의 상대적 무게는 3~21일령에서 최대 발달률을 보였다. 소장 점막세포 maltase와 sucrase 특이적 활성도는 모두 0~3일령에서도 높게 유지되며, 14일령에서 최대 활성도를 보였다($P<0.05$). Leucine aminopeptidase(LAP) 특이적 활성도는 0일령부터 28일령까지 유의적 차이 없이 일정하게 유지되었다. Alkaline phosphatase(ALP) 특이적 활성도는 0일령에서 가장 높은 수준을 보였고($P<0.05$), 그 이후 28일령까지 일정 수준의 활성도를 유지하였다. 간 조직에서 항산화 효소의 특이적 활성도는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPX) 및 glutathione S-transferase(GST)의 특이적 활성도는 모두 0일령에서 가장 낮았으나 일령이 증가할수록 지속적으로 증가하며 28일령에서 가장 높은 수준을 보였다($P<0.05$). Catalase 활성도는 0일령부터 28일령까지 모두 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다. 지질 과산화도(MDA) 함량은 모든 일령에서 낮았지만 21일령에서 일시적으로 증가 후($P<0.05$), 28일령에서 다시 감소하였다. 이상의 결과 한국 재래계는 부화 후 3~14일령에서 소화 장기 발달과 소화 효소 활성도가 급격히 증가하며, 간 조직의 항산화 효소는 부화 후 지속적으로 발현되며 28일령에 가장 높은 활성도를 보였다.

(색인어 : 한국재래계, 소화기관, 소화 효소, 항산화 효소)

사 사

본 연구 수행 과정에서 경상국립대학교 동물생명산업센터(RAIC)의 분석 장비 사용에 감사드립니다.

ORCID

Geun-Hui Nam <https://orcid.org/0009-0005-6815-9661>
 Young-Bin Lee <https://orcid.org/0000-0003-4673-2808>
 Sea-Hwan Sohn <https://orcid.org/0000-0001-6735-9761>
 In-Surk Jang <https://orcid.org/0000-0001-9021-8852>

REFERENCES

- Alpers DH, Mahmood A, Engle M, Yamagishi F, DeSchryver-Kecsckemeti K 1994 The secretion of intestinal alkaline phosphatase (IAP) from the enterocyte. *J Gastroenterol* 29(7):63-67.
- Angel CR, Sell JL, Trampel DW 1990 Stunting syndrome in turkeys: physical and physiological changes. *Poult Sci* 69(11):1931-1942.
- Bidlack WR, Tappel AL 1973 Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipid* 8(4):177-182.
- Coudert E, Baeza E, Chartrin P, Jimenez J, Cailleau-Audouin E, Bordeau T, Berri C 2023 Slow and fast-growing chickens use different antioxidant pathways to maintain their redox balance during postnatal growth. *Animals* 13(7):1160.
- Dahlqvist A 1968 Assay of the intestinal disaccharidase. *Anal Biochem* 22:99-107.
- D'Andre HC, Paul W, Shen X, Jia X, Zhang R, Sun L, Zhang X 2013 Identification and characterization of genes that control fat deposition in chickens. *J Anim Sci Biotechnol* 4(1):43-59.
- Estaki M, DeCoffe D, Gibson DL 2014 Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World J Gastroenterol* 20(42):15650-15656.
- Gal-Garber O, Uni Z 2000 Chicken intestinal aminopeptidase: partial sequence of the gene, expression and activity. *Poult Sci* 79:41-45.
- Gebicka L, Krych-Madej J 2019 The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *J Inorgan Biochem* 197:110699.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB 1974 Glutathione S transferase: the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249(22):7130-7139.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR 2001a Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *Br Poult Sci* 42(4):505-513.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR 2001b Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 2. Development and characteristics of intestinal enzymes. *Br Poult Sci* 42(4):514-522.
- Jin S, Corless A, Sell JL 1998 Digestive system development in post-hatch poultry. *World's Poult Sci J* 54:335-345.
- Julian RJ 2005 Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry-A review. *Vet J* 169(3):350-369.
- Kim ML, Lee JH, Jang IS 2021 Post-hatching development of digestive organs, intestinal digestive enzymes and hepatic antioxidant defense system in White leghorn chicks. *Kor J Poult Sci* 48(1):31-39.
- Li H, Cheng J, Yuan Y, Luo R, Zhu Z 2020 Age-related intestinal monosaccharides transporters expression and villus surface area increase in broiler and layer chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr* 104(1):144-155.
- Lilburn MS, Loeffler S 2015 Early intestinal growth and development in poultry. *Poult Sci* 94(7):1569-1576.
- Matsushita S 1985 Development of sucrase in the chick small intestine. *J Exp Zool* 233(3):377-383.
- Milinkovic-Tur S, Aladrovi J, Ljubic B, Poljicak-Milas N 2009 Age-related antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in heart muscles of broiler chickens fed with supplementary organic selenium. *Veterinarski Arhiv* 79(5):481-489.
- Murakami H, Akiba Y, Horiguchi M 1988 Energy and protein utilization in newly-hatched broiler chicks-Studies on the early nutrition of poultry. *Jap J Zootechnical Sci* 59:523-532.
- Muyyarikkandy MS, Mathew E, Kuttappan D, Amalaradjou MA 2023 *In ovo* and in-feed probiotic supplementation improves layer embryo and pullet growth. *Poult Sci* 102(12):103092.
- Nahashon SN, Nakaue HS, Mirosh LW 1996 Performance of single comb White leghorn fed a diet supplemented with a live microbial during the growth and egg laying phases.

- Anim Feed Sci Tech 57:25-38.
- Nir I, Nitsan Z, Mahagna M 1993 Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. *Br Poult Sci* 34(3):523-532.
- Nitsan Z, Ben-Avraham G, Zoref Z, Nir I 1991a Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Br Poult Sci* 32(3):515-523.
- Nitsan Z, Dunnington EA, Siegel PB 1991b Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. *Poult Sci* 70(10):2040-2048.
- Noy Y, Sklan D 2001 Yolk and exogenous feed utilization in the post-hatch chick. *Poult Sci* 80(10):1490-1495.
- Oakberg EF 1949 Quantitative studies of pancreas and islands of Langerhans in relation to age, sex, and body weight in White Leghorn chickens. *Am J Anatomy* 84(2):279-310.
- Richard J 2005 Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry. A review. *Vet J* 169(3):350-369.
- Sell JL, Angel CR, Piquer FJ, Mallarino EG, al-Batshan HA 1991 Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poult Sci* 70(5):1200-1205.
- Sell JL, Koldovsky O, Reid BL 1989 Intestinal disaccharidases of young turkeys: temporal development and influence of diet composition. *Poult Sci* 68(2):265-277.
- Sklan D 2001 Development of the digestive tract of poultry. *World's Poult Sci J* 57:415-427.
- Speier JS, Yadgary L, Uni Z, Wong EA 2012 Gene expression of nutrient transporters and digestive enzymes in the yolk sac membrane and small intestine of the developing embryonic chick. *Poult Sci* 91(8):1941-1949.
- Surai PF 1999 Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. *Br Poult Sci* 40(3):397-405.
- Surai PF, Kochish II, Fisinin VI, Kidd MT 2019 Antioxidant defense systems and oxidative stress in poultry biology: an update. *Antioxidants* 8(7):235-271.
- Surai PF, Speake BK, Noble RC, Sparks NH 1999 Tissue-specific antioxidant profiles and susceptibility to lipid peroxidation of the newly hatched chick. *Biol Trace Elem Res* 68(1):63-78.
- Tang D, Wu J, Jiao H, Wang X, Zhao J, Lin H 2019 The development of antioxidant system in the intestinal tract of broiler chickens. *Poult Sci* 98(2):664-678.
- Tappel AL 1978 Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods in Enzymol* 52:506-513.
- Tarvid I 1992 Effect of early postnatal long-term fasting on the development of peptide hydrolysis in chicks. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 101(1):161-166.
- Tarvid IL 1995 The development of protein digestion in poultry. *Poult and Avian Biol Rev* 6:35-54.
- Uni Z, Noy Y, Sklan D 1995 Post-hatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy- and light-strain chicks. *Poult Sci* 74(10):1622-1629.
- Xia E, Rao G, Van Remmen H, Heydari AR, Richardson A 1995 Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr* 125(2):195-201.
- Yang S, Wang LL, Shi Z, Ou X, Wang W, Chen X, Liu G 2018 Transcriptional profiling of liver tissues in chicken embryo at day 16 and 20 using RNA sequencing reveals differential antioxidant enzyme activity. *PLOS ONE* 13(2):e0192253.
- Yigit A, Panda A, Cherian G 2014 The avian embryo and its antioxidant defense system. *World's Poult Sci J* 70:563-570.
- Yoshimura Y, Tsuyuki C, Subedi K, Kaiya H, Sugino T, Isobe N 2009 Identification of ghrelin in fertilized eggs of chickens. *J Poult Sci* 46(3):257-259.