

## 치어기 조피볼락 사료내 구기자 첨가효과

임동규·유광열·신동건·김종응·배준영<sup>1</sup>·배승철<sup>1</sup>·이정열<sup>2\*</sup>  
 충청남도수산연구소, <sup>1</sup>부경대학교 양식학과, <sup>2</sup>군산대학교 해양생명양식학과

### Effects of Dietary Kugija *Lycium chinense* Supplementation on Juvenile Korean Rockfish *Sebastes schlegeli*

Dong Kuy LIM, Kwang Yeol YOO, Dong Gun SHIN, Jong Eung KIM,  
 Junyoung BAE<sup>1</sup>, Sungchul C. BAI<sup>1</sup> and Jeong Yeol LEE<sup>2\*</sup>

Chungnam Fisheries Institute, Chungcheongnam-do, Boryong 355-851, Korea

<sup>1</sup>Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>2</sup>Department of Aquaculture and Aquatic Sciences, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea

A 8-week feeding trial was conducted to investigate the effects of dietary supplementation of Kugija (*Lycium chinense*) on the growth and immunological response in juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). Six experimental diets were supplemented with Kugija at 0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 and 5.0% (K<sub>0</sub>, K<sub>0.1</sub>, K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub>, K<sub>5.0</sub>) on a dry-matter basis. After 2 weeks, triplicate groups of 30 fish initially averaging 3.36±0.2 g (mean±SD) were randomly distributed into the aquarium and were fed one of the experimental diets for 8 weeks. By the end of the 8-week feeding trial, fish fed the K<sub>0.5</sub> and K<sub>1.0</sub> diets exhibited a higher weight gain and specific growth rate than fish fed K<sub>0</sub> and K<sub>0.1</sub> diets ( $P<0.05$ ). Feed efficiency of fish fed the K<sub>0.5</sub> diet showed significant higher value than that of fish fed the K<sub>0</sub>, K<sub>3.0</sub> and K<sub>5.0</sub> diets ( $P<0.05$ ). Hepatosomatic index of fish fed the K<sub>5.0</sub> diet was significantly higher than that of fish fed the K<sub>0.1</sub> and K<sub>5.0</sub> diets ( $P<0.05$ ). Hematocrit of fish fed the K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub> and K<sub>5.0</sub> diets was significantly higher than that of fish fed the K<sub>0</sub> diet ( $P<0.05$ ). Glutamic oxaloacetic transaminase of fish fed the K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub> and K<sub>5.0</sub> diets was significantly lower than in fish fed the other diets ( $P<0.05$ ). Glutamic pyruvic transaminase activity of fish fed the K<sub>3.0</sub> diet was significantly lower than those of fish fed the K<sub>0</sub> and K<sub>0.1</sub> diets ( $P<0.05$ ). However, there was no significant difference in the activity of the transaminase in fish fed the K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub> and K<sub>5.0</sub> diets. Lysozyme activity of fish fed the K<sub>0.5</sub> and K<sub>1.0</sub> diets was significantly higher than that in fish fed the K<sub>0</sub> and K<sub>0.1</sub> diets ( $P<0.05$ ). Respiratory burst activity of fish fed the K<sub>3.0</sub> diet was significantly higher than those of fish fed the K<sub>0</sub> and K<sub>0.1</sub> diets ( $P<0.05$ ). However, there was no significant difference in respiratory burst activity of fish fed the K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub> and K<sub>5.0</sub> diets. Fish fed Kugija showed lower early mortality than fish fed a Kugija-free diet upon challenge with *Vibrio ordalii*. The results suggest that feeding of Kugija (*Lycium chinense*) enhances growth, non-specific immunity and disease resistance in juvenile Korean rockfish.

Key words: Kugija *Lycium chinense*, Growth, Immunological response, Korean rockfish *Sebastes schlegeli*

#### 서 론

조피볼락 (*Sebastes schlegeli*)은 일찍부터 종묘생산 기술이 확립되었고, 질병에 대한 내성이 강하며, 광온·광염성 어종으로 사육관리가 용이하여 우리나라에서는 1980년대 말부터 양식이 시작되어 현재는 해산어 양식어류 총생산량 98,965톤 중 넘치 (약 47%) 다음으로 가장 많이 (약 33%) 생산되고 있다 (SYB, 2008). 그러나 대부분의 조피볼락 양식은 인위적인 양식 시스템에서 고밀도로 양식되면서 다양한 형태의 스트레스 (고밀도사육, 물리적 장애, 수질악화, 항생제 및 화학약품의 남용)에 노출되어 있다 (Donaldson, 1981; Wendelaar Bonga, 1997). 이러한 양식조건은 어류의 최적 성장에 지장을 주며

(Wedemeyer, 1976; Wardle, 1981; Pickering, 1992), 체내 대사 와 생리적 상태에 부정적 변화를 가져오게 하여 종묘생산 및 양성과정에 문제점으로 대두되어 궁극적으로는 양식 생산 량에 감소를 가져온다. 또한, 어류의 비특이적 면역조절 능력을 저하시킴으로서 병원균에 쉽게 노출되어 질병에 걸리기 쉽다. 척추동물에 있어 비특이적 방어는 병원균의 감염시 첫 번째 방어선으로 알려져 있으며, 선천적인 면역시스템을 활성화 시킴으로써 병원균으로부터 저항할 수 있는 능력이 강화될 수 있다고 보고되고 있다 (Anderson and Siwicki, 1994). 이와 관련하여 최근 어류의 성장속진 및 사료효율을 개선하거나 어류의 비특이적 면역반응 및 항산화능력을 증강시켜 양식어 류의 질병을 예방하고 생산성을 향상시킬 수 있는 사료첨가제 를 개발에 많은 연구들이 진행되고 있다.

\*Corresponding author: yjeong@kunsan.ac.kr

어류에 효과적으로 작용하는 면역증강 및 성장촉진 물질은 성장호르몬, 박테리아 구성소, 당알류, 동식물 추출물 및 영양성 성분 등으로 알려져 있다 (Harada, 1986; McLean et al., 1990; Sakai et al., 1996).

구기자나무 (*Lycium chinensis* Mill)는 가지과 (Solanaceae)에 속하는 낙엽 활엽관목으로 우리나라 전국에 분포하며, 열매 및 뿌리껍질을 각각 구기자와 지골피라하여 한방에서 널리 사용하고 있고, 잎 또한 구기엽이라 하여 민간약 또는 식용으로 사용되고 있다. 붉은색의 장타원형인 구기자는 8월부터 10월 사이에 열매가 맺히며, 유효 성분으로는 carotenoid, cholin, meliscic acid, zeaxanthin, physalicyn, betaine,  $\beta$ -sitosterol, vitamin B<sub>1</sub>과 불포화 지방산을 다량 함유하고 있어 여러 가지 동물에 대상으로 실험한 결과 항균, 항암, 면역증진, 항산화, 콜레스테롤 저하효과가 입증되었다 (Cha, 1989; Joo and Jang, 1989; Park et al., 1992; Kim et al., 1998; Cho et al., 2004; Lim et al., 2005). 어류를 대상으로는 나일틸라피아와 님치에 구기자 첨가 사료를 공급하였을 때 비특이적 면역반응 지표들이 활성화 되었다는 보고 (Hwang et al., 1999; Kwon et al., 1999)가 있으나, 다른 양식어류를 대상으로 실시한 연구는 거의 찾아보기 힘들다.

본 연구는 국내 주요 양식 대상종인 조피볼락을 대상으로 사료에 구기자를 첨가하였을 경우 나일틸라피아처럼 비특이적 면역반응이 있는지 여부를 조사하고 성장에 미치는 영향을 평가하여 조피볼락의 생산성을 향상시키기 위한 기초조사의 일환으로 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험사료 설계

실험에 사용된 실험사료의 조성은 Table 1에 나타내었다. 실험사료의 단백질원으로 북양어분 (white fish meal), 오징어 간분 (squid liver powder), 탈피 대두박 (dehulled soybean meal)을 사용하였으며, 탄수화물원으로는 밀가루 (wheat meal), 지질원으로는 고도불포화지방산 (n-3 HUFA)이 다량 함유된 오징어 간유 (squid liver oil)를 사용하였다. 구기자의 첨가효과를 확인하기 위하여 분말 구기자를 기초사료 (K<sub>0</sub>)에 각각 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0% 함량 (K<sub>0.1</sub>, K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub>, K<sub>5.0</sub>)이 되도록 첨가하여 대조구를 포함해 총 6가지 사료를 제작하였다. 분말 구기자는 동결건조 한 후 사료원료와 혼합 직전에 300  $\mu$ m 표준체를 사용하여 입자를 걸러 정량 즉시 다른 사료원료들과 혼합하였다. 실험사료의 조단백질 함량은 46.0%, 가용에너지는 15.9 kJ/g (단백질, 16.7 kJ/g; 지질, 37.7 kJ/g; 탄수화물, 16.7 kJ/g)으로 조절하였다 (NRC, 1993). 그리고 각 실험사료별 구기자의 첨가량에 따른 가용에너지의 차이는 밀가루와 셀룰로오스 (cellulose)를 이용하여 동일하게 맞추어 주었다. 모든 실험사료는 원료를 혼합한 후 펠렛 제조기로 압출·성형하였으며, 강제 통풍식 건조기로 건조 (15 $^{\circ}$ C, 24시간)시킨 다음 실험어의 크기에 알맞도록 입자크기를 2,000  $\mu$ m 및 2,500  $\mu$ m 표준체 (sieve)를 사용하여 고르게 선별한 후, 밀봉하여 -20 $^{\circ}$ C에

Table 1. Composition of the basal experimental diets for Korean rockfish(% of DM basis)

Ingredients	%
White fish meal <sup>1</sup>	40.0
Squid liver powder <sup>2</sup>	12.0
Soybean meal <sup>3</sup>	20.0
Wheat meal <sup>4</sup>	13.0
Squid oil <sup>5</sup>	6.0
Vitamin premix <sup>6</sup>	1.0
Mineral premix <sup>7</sup>	3.0
Cellulose	5.0
Kugija	0

<sup>1</sup> Suhyup Co. Busan, Korea.

<sup>2</sup> Jeil feed Co. Haman, Korea.

<sup>3</sup> American Soybean Association.

<sup>4</sup> Young Nam Flourmills Co., Busan, Korea.

<sup>5</sup> E-Wha oil Co., Ltd., Busan, Korea.

<sup>6</sup> Contains (as mg/kg in diets) : Ascorbic acid, 300; dl-Calcium pantothenate, 50; Choline bitartrate, 3000; Inositol, 150; Menadione, 6; Niacin, 150; Pyridoxine-HCl, 15; Riboflavin, 30; Thiamine mononitrate, 15; dl- $\alpha$ -Tocopherol acetate, 201; Retinyl acetate, 6; Biotin, 1.5; Folic acid, 5.4; B12, 0.06.

<sup>7</sup> Contains (as mg/kg in diets) : NaCl, 437.4; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1379.8; NaH<sub>2</sub>P<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 877.8; Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1366.7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2414; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 226.4; Fe-Citrate, 299; Ca-Lactate, 3004; MnSO<sub>4</sub>, 0.016; FeSO<sub>4</sub>, 0.0378; CuSO<sub>4</sub>, 0.00033; Calcium iodate, 0.0006; MgO, 0.00135; NaSeO<sub>3</sub>, 0.00025.

냉동 보관하면서 사용하였다.

#### 실험어 사육관리

실험은 충청남도 수산연구소에서 실시하였다. 실험어는 실험사료 및 환경에 적응시키기 위해 2 주간 기초사료를 공급하면서 예비사육 후 평균무게 3.36 $\pm$ 0.2 g (mean $\pm$ SD)인 조피볼락을 100 L 원형수조에 각 실험구 당 30마리씩 3반복으로 무작위 배치하였다.

각 실험수조는 유수식으로 유수량은 5 L/min으로 조절하였다. 충분한 산소 공급을 위해 에어스톤을 설치하였으며, 실험기간 동안 수온은 자연수온에 의존하였는데 평균 27 $\pm$ 2.4 $^{\circ}$ C였다. 사료는 1일 2회 (오전 10시, 오후 4시) 공급하였으며 8주간의 평균 사료공급율은 어체중의 2.4 $\pm$ 0.4% (mean $\pm$ SD)였다.

#### 어체측정 및 성분분석

성장실험을 위한 어체 측정은 2주 간격으로 실시하였으며, 성장률을 측정하기 위하여 24시간 절식시킨 후 전체무게를 측정하였다. 실험종료 후, 증체율, 사료효율, 일간성장률, 단백질 전환효율, 간중량지수, 비만도 및 생존율을 조사하였다. 간중량지수를 구하기 위해 각 수조별로 5마리씩 간의 무게를 측정하였다.

실험사료 및 전어체의 일반성분은 실험사료와 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체를 대상으로 하였으며, AOAC (2000)방법에 따라 수분은 상압가열건조법 (125

℃, 3시간), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법 ( $N \times 6.25$ ), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 시료를 12시간 동결 건조한 후 Soxtec system 1046 (Tacator AB, Sweden)을 사용하여 Soxhlet 추출법으로 분석하였다.

각각의 실험종료 후, 증체를 조사와 함께 혈액성분 분석을 위하여 실험어를 채혈하기 전까지 약 24시간 동안 절식시킨 실험어를 각 수조당 5마리씩 무작위로 추출하여 실험어의 미부정맥에서 혈액을 채혈한 후, micro-hematocrit법 (Brown, 1980)에 의해 헤마토크리트 (hematocrit, PCV)를 측정하고, 동시에 Drabkin's 용액을 사용하여 cyan-methemoglobin 방법 (Sigma Chemical, St. Louis MO; total hemoglobin procedure No. 525)으로 헤모글로빈 (hemoglobin, Hb)을 측정 하였다. 혈청성분의 분석을 위하여 채혈한 혈액을 항응고제가 처리되지 않은 원심분리관에 넣고 실온에 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 냉장보관하면서 16시간 이내에 분석하였다. 혈청성분은 임상용 kit (아산제약주식회사)를 사용하여 총단백질 (total protein)은 biuret법으로, 글루코스 (glucose)는 효소법으로 그리고 GOT (glutamic oxaloacetic acids)와 GPT (glutamic pyruvic acid)는 Reitman-Frankel법으로 분석하였다.

#### 비특이적 면역반응

식세포의 활성산소는 (NBT assay) Whyte et al. (1990) 방법에 따라 분석하였다. 먼저 무균적으로 실험어의 head kidney를 추출하고 teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glass-Col Ltd., Germany)로 분쇄하여 단일 세포 현탁액을 준비하였다.

세포 현탁액은 51% percoll (Sigma Aldrich Co. Ltd) density gradient에 중층하여 4℃, 600 g에서 30분간 원심분리하였다. 실험어의 macrophage 층을 덜어내어 5,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 L-15 medium으로 washing한 다음 최종적으로 L-15 medium에 적정 농도로 현탁시켰다. 96-well culture plate에 세포 현탁액 100  $\mu$ L ( $5 \times 10^5$  cells/well)를 각 well에 첨가한 후, NBT (nitroblue tetrazolium, Sigma-Aldrich) 1 mg/mL를 첨가하고 PMA (phorbol myristate acetate) 1  $\mu$ g/mL로 자극시켜 25℃에서 20분간 반응시켰다. 그 뒤 상층액을 제거하고 well을 70% methanol로 washing 한 뒤 상온에서 자연 건조시켰다. 다음에 2 m KOH 120  $\mu$ L/mL를 첨가하여 insoluble blue formazin을 수용성으로 변화시키고 DMSO (dimethyl sulphoxide, Sigma-Aldrich) 140  $\mu$ L/well를 첨가하였다. 최종적으로 그 plate를 OD 620 nm에서 micro-reader (Packard Spectrocount™)로 측정하여 실험어의 식세포 활성산소를 측정하였다.

라이소자임 활성은 Parry et al. (1965)의 turbidimetric method를 이용하여 측정하였다. 즉, *Micrococcus lysodeikticus* (0.2 mg/mL) 현탁액 950  $\mu$ L와 혈청 50  $\mu$ L를 혼합하여 25℃에서 30초 및 4분 30초간 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라이소자임 활성은 units/mL로 나타내었으며, 1 unit는 흡광도 값이 0.001/min 감소한 값으로 표시하였다.

#### 공격실험

공격실험용 세균은 2% 식염을 첨가한 BHIA 평판배지에 *Vibrio ordalii* ATCC 333509 (부유액  $1 \times 10^7$  cfu/mL)를 접종하여 25℃에서 24시간 배양하여 준비하였다. 어류 당 세균 부유물 0.1 mL를 실험어의 등지느러미 밑 근육에 주사한 후 폐사를 기록하였다. 이 접종군의 농도는 10일간의 100% 치사농도이다. 병원균을 접종한 어류는 먹이 공급없이 지수식으로 관리하면서 누적폐사율을 측정하였다.

#### 통계처리

모든 자료의 3통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN, USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소유의차검정 (LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성 ( $P < 0.05$ )을 검정하였다.

#### 결과 및 고찰

최근 양식산업에서 경제성과 경쟁력을 높이기 위하여 어류의 성장을 촉진시키고 질병에 대한 방어력을 증대시키고자 많은 연구들이 수행되어 왔다. 그 중에도 어류의 성장을 증가시키기 위하여 사료의 질을 개선시키는 방법이 다각도로 연구되고 있으며 (Yone et al., 1986; Nematipour et al., 1988), 사료에 유용 물질을 첨가하여 성장뿐만 아니라 질병에 대한 방어력도 증가시키고자 하는 연구도 계속되고 있다 (Porubcan, 1991; Vazquez-Juarez et al., 1993; Mohanty et al., 1996; Bogut et al., 1998; Kennedy et al., 1998; Queiroz and Boyd, 1998; Gatesoupe, 1999; Irianto and Austin, 2002; Maurilio Lara-Flores et al., 2003; Raida et al., 2003). 이외에도 특정 질병의 예방을 위해서 여러 가지 백신의 제작법 및 처리 방법들이 연구되고 있다 (Shon et al., 2002; Cho et al., 2006).

본 실험에서는 치어기 조피볼락에 대상으로 구기자 첨가 사료를 공급하여 성장, 비특이적 면역반응 및 병원성세균에 대한 저항력에 미치는 영향을 조사하였다.

성장실험 결과, 기초사료내 구기자를 0.5, 1.0 및 3.0% 첨가한 실험구가 다른 모든 실험구에 비해 성장, 사료효율 및 일간 성장률에 있어 높은 경향을 보였다 (Table 2). 이러한 결과는 사료내 적정수준의 구기자 첨가가 생리적 장애를 감소시켜 성장에 영향을 주었을 것이라 생각된다.

어류의 혈액성상은 영양, 건강상태 및 스트레스 정도를 해석하는 지표로 흔히 이용되고 있는데, 사료내 필수영양소의 결핍이나 그 어종이 처해있는 서식환경 및 성장에 따라서도 변화된다고 보고된 바 있다 (Siddiqui, 1977; Garcia-Garrido et al., 1990). 본 실험에서 구기자 첨가 사료 ( $K_{0.5}$ ,  $K_{1.0}$ ,  $K_{3.0}$  &  $K_{5.0}$ )를 섭취한 조피볼락이 다른 실험구 ( $K_0$  &  $K_{0.1}$ )의 조피볼락에 비해 GOT와 GPT가 낮은 경향을 나타내었는데 (Table 3), 이러한 결과는 랫드 (Cho et al., 2004)와 틸라피아 (Kwon et al., 1999)의 결과와 유사하였다.

어류에 있어 비특이적 면역반응이 얼마나 증대되었는지를 가장 잘 반영할 수 있는 필수적인 척도로서 식세포 활성도 (phagocyte activity) 측정이 많이 사용되고 있다. 그 외 혈청내

Table 2. Weight gain, feed efficiency, specific growth rate and protein efficiency rate for Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) fed experimental diet for eight-weeks of feeding period<sup>1</sup>

	Diets						Pooled SEM <sup>8</sup>
	K <sub>0</sub>	K <sub>0.1</sub>	K <sub>0.5</sub>	K <sub>1.0</sub>	K <sub>3.0</sub>	K <sub>5.0</sub>	
WG (%) <sup>2</sup>	111.1 <sup>c</sup>	107.5 <sup>c</sup>	158.8 <sup>a</sup>	130.7 <sup>ab</sup>	115.5 <sup>bc</sup>	107.4 <sup>c</sup>	5.64
FE (%) <sup>3</sup>	66.9 <sup>b</sup>	74.6 <sup>ab</sup>	86.4 <sup>a</sup>	74.2 <sup>ab</sup>	68.8 <sup>b</sup>	69.0 <sup>b</sup>	2.51
SGR (%) <sup>4</sup>	1.24 <sup>c</sup>	1.21 <sup>c</sup>	1.58 <sup>a</sup>	1.38 <sup>b</sup>	1.28 <sup>bc</sup>	1.22 <sup>c</sup>	0.04
PER (%) <sup>5</sup>	1.62	1.49	1.90	1.72	1.66	1.59	0.08
HSI (%) <sup>6</sup>	2.82 <sup>b</sup>	2.82 <sup>b</sup>	2.98 <sup>ab</sup>	2.93 <sup>ab</sup>	3.01 <sup>ab</sup>	3.20 <sup>a</sup>	0.08
CF (%) <sup>7</sup>	1.46	1.53	1.65	1.62	1.60	1.57	0.03

<sup>1</sup> Means of triplicate experimental groups; Values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain: [(final wt. - initial wt.) / initial wt.] × 100.

<sup>3</sup> Feed efficiency: (wet weight gain / dry feed intake) × 100.

<sup>4</sup> Specific growth rate: [(log final wt. - log initial wt.) / days] × 100.

<sup>5</sup> Protein efficiency ratio: wet wt. gain / protein intake.

<sup>6</sup> Hepatosomatic index: (liver weight / body weight) × 100.

<sup>7</sup> Condition factor: {fish wt.(g) / fish length (cm)<sup>3</sup>} × 100.

<sup>8</sup> Pooled standard error of mean: SD/√n.

Table 3. Hematological and serological characteristics of Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) fed experimental diets for eight-weeks<sup>1</sup>

	Diets						Pooled SEM <sup>4</sup>
	K <sub>0</sub>	K <sub>0.1</sub>	K <sub>0.5</sub>	K <sub>1.0</sub>	K <sub>3.0</sub>	K <sub>5.0</sub>	
Hemoglobin (g/dL)	6.69	6.12	6.41	6.52	6.11	6.86	0.13
Hematocrit (%)	30.0 <sup>b</sup>	33.3 <sup>ab</sup>	39.3 <sup>a</sup>	37.3 <sup>a</sup>	33.3 <sup>ab</sup>	37.7 <sup>a</sup>	0.98
Serum GOT (IU/L) <sup>2</sup>	52.8 <sup>b</sup>	53.6 <sup>b</sup>	46.7 <sup>a</sup>	45.4 <sup>a</sup>	44.8 <sup>a</sup>	46.4 <sup>a</sup>	0.87
Serum GPT (IU/L) <sup>3</sup>	11.5 <sup>b</sup>	12.1 <sup>b</sup>	9.20 <sup>ab</sup>	9.43 <sup>ab</sup>	8.17 <sup>a</sup>	9.40 <sup>ab</sup>	0.45
Serum protein (g/dL)	3.63	3.47	3.60	3.33	3.23	3.20	0.12
Serum glucose (mg/dL)	47.4	48.0	46.1	46.2	47.8	46.5	0.84

<sup>1</sup> Means of triplicate experimental groups; Values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Glutamic oxaloacetic transaminase. One unit is defined as the amount of enzyme causing the transamination of 1.0 μmol of L-aspartate per minute at 25°C and pH 7.4.

<sup>3</sup> Glutamic pyruvic transaminase. One unit is defined as the amount of enzyme causing the transamination of 1.0 μmol of L-alanine per minute at 25°C and pH 7.4.

<sup>4</sup> Pooled standard error of mean: SD/√n.

lysozyme 활성 및 보체의 활성도 등이 사용되고 있으며, 병원성 세균을 실제로 어류에 접종하여 저항성을 평가하기도 하고 있다. 기초사료내 구기자를 0.5% 이상 첨가한 모든 실험구 (K<sub>0.5</sub>, K<sub>1.0</sub>, K<sub>3.0</sub>, K<sub>5.0</sub>)의 NBT 활성이 대조구 (K<sub>0</sub>) 및 0.1% (K<sub>0.1</sub>) 첨가한 실험구에 비해 높은 경향을 나타냈다 (Table 4). 이것은 아마도 어체내에서 구기자의 특정 성분이 항산화와 관련된 효소의 활성화에 직·간접적으로 영향을 끼쳐, 식세포의 호흡 폭발시 발생하는 ROIs (reactive oxygen intermediates)의 생성에 영향을 미친 것으로 생각된다. 라이소자임은 항생물질과 같은 성상을 나타내는 임파구 유래의 점액 용균성 효소로 이 효소는 자연계에 널리 분포하고 있고 점액 및 타액과 같은 분비액, 혈액 등의 조직 중에서 관찰되고 있다. 이 효소는 gram 양성균에 대하여는 세포벽에 함유된 acetyl-aminopolysaccharide를 용해하며, gram 음성균에 대하여는 직접 용균작용을 나타내고 또한 보체 및 항체의 도움을 받아서 보체 의존

성인 용균반응을 증강시킨다. 그러므로 라이소자임은 보체와 밀접한 관련성이 있으며 많은 동물이 기생성, 세균성 및 바이러스성 감염에 대하여 내인성 방어기구의 일부가 된다 (Ingram, 1980). 본 실험에서는 기초사료내 구기자를 0.5% 이상 첨가한 실험구의 라이소자임 활성이 대조구 및 0.1% 첨가한 실험구에 비해 유의적으로 높은 경향을 나타냈다 (Table 4). 이러한 결과들은 사료내 분말구기자 첨가가 조피볼락의 비특이적 면역반응을 증가시켜 준다는 것을 알 수 있으며, 틸라피아와 넙치에게 구기자를 공급하였을 때 비특이적 면역반응을 증가시킨다는 보고와 일치하였다 (Hwang et al., 1999; Kwon et al., 1999).

공격실험 결과 (인위적 감염에 의한 누적폐사율) 어류의 폐사는 *Vpibrio ordalii*를 접종한 지 2일째부터 나타나기 시작하여 9일만에 100%의 폐사율을 나타내었다 (Table 5, Fig. 1). 구기자를 0.5% 이상 첨가한 모든 실험구가 대조구에 비하여

Table 4. Non-specific immune factors for Korean rockfish (*Sebastes schlegelii*) fed the experimental diets for eight-weeks<sup>1</sup>

Diets	NBT (O.D/10 <sup>6</sup> cells)	Lysozyme activity (U/ml)
K <sub>0</sub>	0.242 <sup>b</sup>	96.7 <sup>b</sup>
K <sub>0.1</sub>	0.262 <sup>b</sup>	83.2 <sup>b</sup>
K <sub>0.5</sub>	0.352 <sup>ab</sup>	156 <sup>a</sup>
K <sub>1.0</sub>	0.302 <sup>ab</sup>	160 <sup>a</sup>
K <sub>3.0</sub>	0.569 <sup>a</sup>	123 <sup>ab</sup>
K <sub>5.0</sub>	0.335 <sup>ab</sup>	135 <sup>ab</sup>
Pooled SEM <sup>2</sup>	0.03	12.1

<sup>1</sup> Values are means from triplicate experimental groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .

Table 5. Cumulative mortality (%) after intraperitoneal injection of *V. ordalii* in cultured Korean rockfish (*Sebastes schlegelii*)<sup>1</sup>

Days	Diets						Pooled SEM <sup>2</sup>
	K <sub>0</sub>	K <sub>0.1</sub>	K <sub>0.5</sub>	K <sub>1.0</sub>	K <sub>3.0</sub>	K <sub>5.0</sub>	
2	16.7	20.0	10.0	10.0	13.3	10.0	2.29
3	36.7	33.3	16.7	26.7	30.0	23.3	4.01
4	63.3	56.7	40.0	50.0	46.7	40.0	5.27
5	86.7	80.0	70.0	70.0	66.7	60.0	5.65
6	100 <sup>b</sup>	93.3 <sup>ab</sup>	90.0 <sup>ab</sup>	86.7 <sup>ab</sup>	76.7 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>	3.08
7	100 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>	90.0 <sup>ab</sup>	86.7 <sup>ab</sup>	83.3 <sup>a</sup>	90.0 <sup>ab</sup>	2.83
8	100	100	100	96.7	83.3	90.0	2.02

<sup>1</sup> Means of triplicate experimental groups; Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .

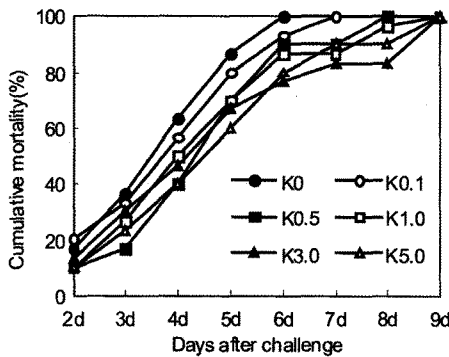


Fig. 1. Cumulative mortality (%) after intraperitoneal injection of *V. ordalii* in cultured Korean rockfish.

초기 폐사율이 낮게 나타났으며, 공격실험 6일째에는 K<sub>3.0</sub>과 K<sub>5.0</sub> 실험구가 대조 실험구 (K<sub>0</sub>) 보다 유의하게 낮게 나타났다. 이러한 결과는 구기자사의 비특이적 면역반응 증대효과가 공격 실험에서 낮은 폐사율을 나타낸 것이 아닌가 생각된다. 이번 실험 결과를 통해 치어기 조피볼락 사료내 분말구기자

의 첨가는 조피볼락의 성장증가와 비특이적 면역반응을 증강시키며, 앞으로 양식산업의 신장과 더불어 고밀도 사육으로 인한 많은 질병 발생요인들에 대한 저항성을 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 급변 실험이 치어기 조피볼락에 한정되어 있으며, 실험기간도 짧아 앞으로 치어기 뿐만 아니라 육성어를 대상으로 장기간 실험하여 평가하여야 할 필요가 있고 상기 결과에 기인하는 특정 물질을 추출하여 그 물질을 대상으로 실험한다면 더 나은 연구결과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

참고 문헌

Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1994. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion. *Prog. Fish Cult.*, 56, 258-261.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th edition. Cunniff, P. ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, U.S.A.

Bogut, I., Z. Milakovic, Z. Bukvic, S. Brkic and R. Zimmer. 1998. Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). *Czech. J. Anim. Sci.*, 43, 231-235.

Brown, B. A. 1980. Routine hematology procedures. In: *Hematology: Principles and Procedures*. Lea and Febiger, eds. Philadelphia, pp.71-112.

Cha J.H. 1989. Practical oriental pharmacy. Ilwol, Korea.

Cho J.H., J.S. Sin, E.J. Kim, S.H. Shin, J.Y. Jang, K.S. Shin, Y.B. Kim, J.K. Kang and S.Y. Hwang. 2004. Protective effect of *Lycii fructus* extract against Hepatotoxicity induce by carbon tetrachloride. *Kor., J. Lab. Anim. Sci.*, 20, 187-193.

Cho M.Y., D.C. Lee, J.S. Lee, J.W. Do, M.S. Kim, M.Y. Choi, Y.C. Kim, B.K. Kang, Y.D. Yoon and J.W. Kim. 2006. Stability and efficacy of formalin-killed *Streptococcus iniae* vaccine for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 19, 165-172.

Donaldson, E.M. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. *Stress in Fish*, A.D. Pickering, ed. Academic Press, 11-47.

Garcia-Garrido L., R. Munoz-Chapuli and Andres Avde. 1990. Serum cholesterol and triglyceride levels in *Scyliorhinus canicula* (L.) during sexual maturation. *J. Fish. Biol.*, 36, 499-509.

Gatesoupe F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180, 147-165.

- Harada, K. 1986. Feeding attraction activities of nucleic acid-related compounds for abalone, oriental weatherfish and yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 1961-1968.
- Hwang, M.H., S.I. Park and Y.C. Kim. 1999. Effect of dietary herb medical stuff on the non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *J. Fish Pathol.*, 12, 7-15.
- Ingram, G.A. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection-a review. *J. Fish Biol.*, 16, 23-60.
- Irianto, A. and B. Austin. 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish. Dis.*, 25, 633-642.
- Joo H.K. and D.J. Jang. 1989. Effects of shanshuyu (*Cornus officinalis* Sieb) tea and market teas feeding on the hematology and liver function of rat. *Korean J. Dietary Culture*, 4, 257.
- Kennedy, S.B., J.W. Tucker, C.L. Neidic, G.K. Vermeer, V.R. Cooper, J.L. Jarrell and D.G. Sennett. 1998. Bacterial management strategies for stock enhancement of warm water marine fish: a case study with common snook (*Centropomus undecimalis*). *Bull. Mar. Sci.*, 62, 573-588.
- Kim K.S., S.H. Shim, G.H. Jeong, C.S. Cheong, K.H. Ko, J.H. Park, H.H. Bong, B.J. Lee and B.K. Kim. 1998. Anti-diabetic activity of constituents of Lycii fructus. *J. Appl. Pharmacol.*, 6, 378-382.
- Kwon M.G., Y.C. Kim, Y.C. Shon and S.I. Park. 1999. The dietary supplementing effects of Kugija, *Lycium chinense*, on immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Edwardsiella tarda*. *J. Fish Pathol.*, 12, 73-81.
- Lim H.J., K.H. Cho and R.W. Choue. 2005. The effects of functional tea (*Mori folium*, Lycii fructus, *Chrysanthemi flos*, *Zizyphi fructus*, *Sesamum semen*, *Raphani semen*) supplement with medical nutrition therapy on the blood lipid levels and antioxidant status in subjects with hyperlipidemia. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 42-56.
- Maurilio Lara-Flores, A. Olvera-Novoa Miguel, Beatriz E. Guzman-Mendez, Wilberth Lopez-Madrid. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216, 193-201.
- McLean, E., Baker, I. Sherwood, N.M. and E.M. Donaldson. 1990. Short communication: Induced ovulation of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) following oral administration of des Gly super(10)-(D-Ala super(6)) LH-RH ethylamide. *Fish Physiol. Biochem.*, 8, 497-499.
- Mohanty, S.N., S.K. Swain and S.D. Tripathi. 1996. Rearing of catla (*Catla catla* Ham.) spawn on formulated diets. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 11, 253-258.
- Nematipour, G.R., H. Nakagawa, S. Kasahara and S. Ohya. 1988. Effects of dietary lipid level and chlorella extract on ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1395-1400.
- NRC (National Research Council). 1993. Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes. National Academic Press, Washington, D.C., U.S.A. 210 pp.
- Park U.Y., D.S. Chang and H.R. Cho. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21, 91-96.
- Parry, R.M., R.C. Chandan and R.M. Shahani. 1965. A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119, 384-386.
- Pickering, A.D. 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture*, 100, 125-139.
- Porubcan, R.S. 1991. Reduction in chemical oxygen demand and improvement in *Penaeus monodon* yield in ponds inoculated with aerobic *Bacillus* bacteria. In: Program and Abstracts of the 22nd Annual Conference and Exposition, World Aquaculture Society. pp.16-20.
- Queiroz, J.F. and C.E. Boyd. 1998. Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, 29, 67-73.
- Raida, M.K., J.L. Larsen., M.E. Nielsen and K. Buchmann. 2003. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus 2B). *J. Fish. Dis.*, 26, 495-498.
- Sakai, M., Y. Kajita, M. Kobayashi and H. Kawauchi. 1996. Increase in haemolytic activity of serum from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* injected with exogenous growth hormone. *Fish Shellfish Immunology*, 6, 615-617.
- Siddiqui, N. 1977. Changes in blood plasma mineral concentration with feeding spawning and size of air-breathing cat-fish (*Clarias batrachus*). *Zool. Jahrb., Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere*, 81, 83-89.
- Sohn S.G., M.S. Kim, J.H. Park, M.H. Yoo and H.D. Jeong. 2002. Bacterins to prevent the contamination of *Vibrio vulnificus* in the flounder, *Paralichthys*

- olivaceus*. J. Korean Fish. Soc., 35, 1-7.
- SYB (Statistical Year Book of Maritime Affairs and Fisheries). 2008. Statistical Year Book of Maritime Affairs and Fisheries. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Korea.
- Vaquez-Juarez, R., F. Ascensio, T. Andlid, L. Gustafsson and T. Wadstrom. 1993. The expression of potential colonisation factors of yeasts isolated from fish during different growth conditions. Can. J. Microbiol., 39, 1135-1141.
- Wardle, C.S. 1981. Physiological stress in captive fish. In: Aquarium Systems. Hawkins, A.D., ed. Academic Press, London, pp. 403-414.
- Wedemeyer, G.A. 1976. Physiological response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to handling and crowding stress in intensive fish culture. J. Fish. Res. Board Canada, 33, 2699-2702.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. Physiol. Rev., 77, 591-625.
- Whyte, S.K., L.H. Chappell and C.J. Secombes. 1990. Protection of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Richardson), against *Diplostomum spathaceum* (Digenea): the role of specific antibody and activated macrophages. J. Fish. Dis., 13, 281-291.
- Yone, Y., M. Furuichi and K. Urano. 1986. Effects of wakame *Undaria pinnatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on absorption of dietary nutrients, and blood sugar and plasma free amino-N level of red seabream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52, 1817-1819.

---

2008년 6월 13일 접수  
 2009년 4월 3일 수정  
 2009년 6월 8일 수리