한국어병학회지 제23권 제3호
J.Fish Pathol., 23(3) : 343~355 (2010)

유산균 배양액 첨가 사료에 의한 숭어, *Mugil cephalus*의 성장, 혈액 및 비특이적 면역학적 반응 효과

민은영 · 김용석 · 강주찬†

부경대학교 수산생명의학과

Dietary Effects of Lactic Acid Bacteria on Growth, Hematological and Immune Responses of Grey Mullet, *Mugil cephalus*

Eun-Young Min, Young-Sug Kim and Ju-Chan Kang†

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Kora

This study was conducted to investigate the dietary effects of lactic acid bacteria (LAB) supplementation on growth, hematological and immune responses of grey mullet, *Mugil cephalus*. Three replicate groups of grey mullet (body length, 62.8±1.04 ㎜; body weight, 3.2±0.13 ㎎) were fed the experimental diets with 0 (control), 1, 2.5 and 5,0 % of LAB for 3 months. Total body length growth rate was increased in 2.5 % supplementation group compared to control ($P<0.05$). No differences were observed in hematological parameters (hematocrit, hemoglobin, RBCs) and serum chemistry (calcium, magnesium, total protein, glucose, GOT and GPT). The antioxidant activity of grey mullet fed the 5.0 % LAB diets was significantly higher than that of other groups ($P<0.05$). Both intracellular superoxide anion production and lysozyme activity of kidney were higher in the 2.5 % LAB diet than in the control ($P<0.05$).

Key words : Grey Mullet, Lactic acid bacteria, Growth, Hematological, Immune

우리나라의 어류양식은 1980년대부터 발달하기 시작하여 현재 연안을 접한 많은 지역에서 행해지고 있으며, 몇몇의 특정 어류에 한정되어 좁은 수면에서 대량생산을 목적으로 고밀도 양식이 이루어지고 있다. 일반적으로 고밀도 어류양식은 물리적 스트레스를 비롯하여 사육환경 악화, 먹이경쟁, 생활공간의 협소 및 수산약제의 사용 등에 의해 많은 스트레스를 받게 되며 (Wendelaar *et al*., 1997), 이러한 스트레스는 양식 어류의 생산성에 부정적인 영향을 미친다. 즉 양식과정에서 스트레스를 받은 어류는 체내 대사와 생리상태의 변화로 생산성 감소를 초래하며 (Wardle, 1981), 종묘생산 및 양성과정에서 어류의 면역기능을 저하시켜 질병에 대한 감수성이 증가된다 (Pickering, 1992). 어류의 비특이적 방어는 병원균의 감염 시에 첫 번째 방어선으로 알려져 있으며, 선천적인 면역시스템의 활성에 의해 병원균으로부터 저항할 수 있는 능력이 강화될 수 있다 (Anderson and Siwicki, 1994). 따라서 어류양식 연구자들은 어류의 성장촉진 및 사료효율을 개선하거나 어류의 비특이적 면역을

†Corresponding author: Ju-Chan Kang
Department of Aquatic Life Medicine,
Pukyong National University, Pusan 608- 737,
South Korea
Tel: +82-51-629-5944 Fax: +82-51-629-5938
Email: jckang@pknu.ac.kr

증강시켜 질병예방 및 생산성 향상시키는 사료 첨가제에 대한 연구들을 진행하고 있다. 어류의 성장촉진에 관한 첨가사료에 대한 연구는 성장호르몬, 다당류, 한약재 및 동식물 추출물 등이 있다 (Chen and Ainsworth, 1992; Sakai *et al*., 1996a; Jeong *et al*., 2003). 또한 어류의 비특이적 면역 증강효과에 관한 연구는 β-glucan (Won *et al*., 2004), 기생충 구제제인 levamisole (Kajita *et al*., 1990), 감귤 발효액 (Song *et al*., 2002), 녹차 (Park *et al*., 1999), 구기자와 같은 각종 생약제 (Hwang *et al*., 1999; Kwon *et al*., 1999) 및 생균제 (Jeong *et al*., 2006) 등이 있으며, 해조류인 미역 (Yone *et al*., 1986), 다시마 (Nakagawa *et al*., 1985) 및 파래 (Choi *et al*., 1995) 등의 사료 첨가에 의해서도 비특이적 면역 증강효과를 보고하고 있다.

유산균은 유산을 대사산물로 생성하여 장내 pH를 낮추어 장내 해로운 균의 번식을 억제하고 (Perdigon *et al*, 1990; Jun *et al*., 1999), 장내 미생물 형성에 영향을 미쳐 (Shahani and Ayebo, 1980) 장내 독소 제거에 의해 장 질환을 억제할 뿐만 아니라 비특이적 면역기능 강화 (Jun *et al*., 1999; Shida *et al*., 1998), 혈중 콜레스테롤 저하 (Rhim *et al*., 1993), 간 기능 항진작용 (Beak, 1993), 항암작용 (Kato *et al*., 1994; Kim and Han, 1995) 및 항산화작용 (Kim and Ham, 2003; Kaizu *et al*., 1993) 등의 다양한 효과가 있다. 또한 유산균의 건강증진 효과는 생균일 때뿐만 아니라 가열살균 (Shida *et al*., 1998; Kato *et al*., 1994), 동결건조 형태 (Lee *et al*., 2003; Park *et al*., 1993) 및 유산균 파쇄액 (Kaizu *et al*., 1993) 혹은 동결 건조한 유산균 파쇄액 (Chae *et al*., 1998; Shin *et al*., 1998) 형태로도 건강에 긍정적인 작용을 하며, 유산균 사멸 후에도 장으로 흡수되어 생리활성을 가질 것으로 추정하고 있다.

따라서 본 연구는 환경변화에 대한 적응력이 우수하여 양식어종으로 부각되고 있는 숭어, *Mugil cephalus*를 대상으로 사료 내에 유산균 배양액 (cultured broths of lactic acid bacteria, LAB) 첨가에 따른 성장, 생리 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

실험어

숭어, *Mugil cephalus*는 충남 보령 소재 양어장에서 분양받아 실험사육실로 운반한 후, 0.5톤 수조에서 배합사료를 공급하면서 4주 동안 순치시켰으며, 수온, 염분 및 용존산소는 각각 19.2～20.4℃, 29.6～30.2‰ 및 6.7～6.9 ㎎/L 이였다. 순치가 완료된 숭어는 외관상 질병 증세가 나타나지 않은 건강한 개체 (체장, 62.8±1.0 ㎜; 체중, 3±0.1 ㎎)를 무작위로 선별하여 250 L의 원형수조에 각각 50마리씩 수용하였다. 이때 용존산소는 에어스톤으로 계속적으로 공급하였고, 광주기는 자연 상태에 의존하였으며, 사육기간 동안 해수수질은 Table 1과 같다. 실험기간 동안 사육환경의 악화를 방지하기 위하여 사육해수는 3일마다 교환하였고, 실험사료는 1일 2회 (오전 9시, 오후 5시) 어체중의 2%를 공급하였다. 모든 실험사육은 3반복으로 3개월 동안 실시하였다.

Table 1. Water quality of seawater used in experiment

Test parameters	Value
Temperature	20±0.5℃
pH	8.0±0.1
Salinity	30±1 psu
Dissolved oxygen (㎎/L)	7.2±0.5
NH4-N (μg-at N/L)	0.034±0.02
NO2-N (μg-at N/L)	0.09±0.01
NO3-N (μg-at N/L)	0.22±0.01
PO4-P (μg-at N/L)	0.08±0.006
COD (㎎/L)	1.0±0.1

실험사료

실험사료는 Table 2와 같이 시판용 숭어치어사료, 즉 protein 38%, lipid 5.5%, fiber 3.0%, ash 17.0%, calcium 1.0% 및 phosphorus 2.7%가 포함된 사료에 유산균 배양액 (LAB)을 사료 당 각각 1%, 2.5% 및 5% 되도록 흡착하여 어유로 처리하였다. LAB가 첨가된 사료는 밀봉상태로 -20℃에 냉동 보관하면서 1일 2회 (오전 9시, 오후 5시) 어체중의 2%를 공급하였고, 대조구의 사료는 유산균 배양액 (LAB)을 첨가하지 않은 사료를 공급하였다.

Table 2. Composition of the experimental diet

Component	Composition (%)
Protein	38.0
Lipid	5.5
Fiber	3.0
Ash	17.0
Calcium	1.0
Phosphorus	2.7

성장측정

실험어는 실험수조에 수용하기 전에 체장 및 체중을 측정하였고, 실험사료는 실험어를 실험수조에 수용한 다음 날부터 공급하였다. 모든 실험에서 1일 전 절식시킨 후 MS-222 (100ppm)로 마취시킨 후 체장과 체중을 측정하였고, 실험 2달 및 3달째에 전장 및 체중을 측정하여 각각의 성장률을 계산하였다.

혈액분석

혈액은 미부정맥 (caudal vein)에서 heparin-Na (25,000 I.U., 중외제약)을 처리한 1회용 주사기를 사용하여 채혈하였다. 적혈구수(Red blood cell count)는 Hendrick's diluting solution으로 혈액을 희석한 후, Hemo cytometer (Improved Neubauer, Germany)을 이용하여 광학 현미경으로 계수하였다. 적혈구 용적 (Hematocrit)치는 모세관으로 혈액을 수집한 후 Microhematocrit centrifuge (Hawksley and sons Ltd., England)에서 12,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 판독판으로 측정하였으며, 혈색소 농도 (Hemoglobin)는 Clinic kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 Cyan-methemoglobin법으로 측정하였다. 채취한 혈액은 1시간 동안 냉장 보관 후 4℃에서 2시간 동안 방치시킨 다음 6,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 냉장보관하면서 8시간 이내에 생화학적 분석을 완료하였다. 혈청 무기성분은 칼슘 (Calcium), 마그네슘 (Magnesium)에 대하여 Calcium은 o-cresolphthalein-complexon법, Magnesium은 Xylidyl blue법에 의하여 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였다. 혈청 유기성분은 혈당(Glucose) 및 총단백질 (Total protein)에 대하여 Glucose는 GOD/POD법, Total protein은 biuret법으로 시판되고 있는 임상용 kit (Aan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였다. 혈청 효소활성은 GOT (Glutamic oxalate transminase)와 GPT (Glutamic pyruvate transminase)에 대하여 Reitman-Frankel법으로 임상용 kit (Iatron Pharm. Co. Ltd., Japan)로 측정하였다.

DPPH법을 이용한 항산화 활성 분석

숭어를 해부하여 간을 분리한 후 0.1M PBS로 2회 세척 한 후 homogenizer를 이용하여 얼음 위에서 균질화하였다. 이 균질액을 4℃에서 30분간 15,000 g로 원심분리한 후 상층액을 분리하여 분석에 사용하였다. DPPH (0.1 mM) 1 ㎖에 위 상층액을 100 ㎕를 넣고 혼합한 후 0분과 60분 째에 spectrophotometer를 이용하여 519 nm에서 측정한 후 다음과 같은 공식에

의거 항산화능을 계산하였다.

Inhibition rate (%)=($O.D_{0\ min}$ − $O.D_{60\ min}$)×100/ $O.D_{0\ min}$

비특이적 면역반응

LAB를 급이한 숭어의 비특이적 면역 기능은 세포성 면역지표인 식세포 활성산소의 활성은 Won *et al*., (2004)의 방법에 의해 측정하였고, 체액성 면역지표인 lysozyme 활성은 Parry *et al*. (1995)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 숭어의 lysozyme 활성은 측정용 시료 0.5 ㎖에 *Micrococcus lysodeikticus* (OD_{530}=0.6) 현탁액 2.5 ㎖을 첨가하여 25℃에서 20분간 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 unit/㎖로 나타내었으며, 1 unit은 흡광도 값이 0.001 감소한 값으로 표시하였다.

통계학적 분석

대조구와 각 실험구 사이의 통계학적 유의성은 SPSS 통계프로그램 (SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후 P 값이 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

성장형질의 변화

유산균 배양액 (lactic acid bacteria, LAB) 첨가사료에 의해 3개월 동안 숭어를 사육한 결과, 숭어는 대조구를 비롯하여 모든 LAB 첨가구에서 100% 생존하였다. 숭어의 체장 성장은 LAB를 첨가한 모든 실험구에서 2달째 대조구와 유사한 값을 나타냈으나, 3달째부터는 대조구보다 증가하는 경향을 보였으며, 특히 LAB 2.5 % 첨가구에서는 유의한 증가를 나타냈다 ($P<0.05$, Fig. 1). 숭어의 체중 성장 및 사료효율은 LAB 첨가구에서 대체적으로 증가하는 경향을 보였으나, 급이 2달 및 3달째 대조구에 비해 유의한 증가는 관찰되지 않았다.

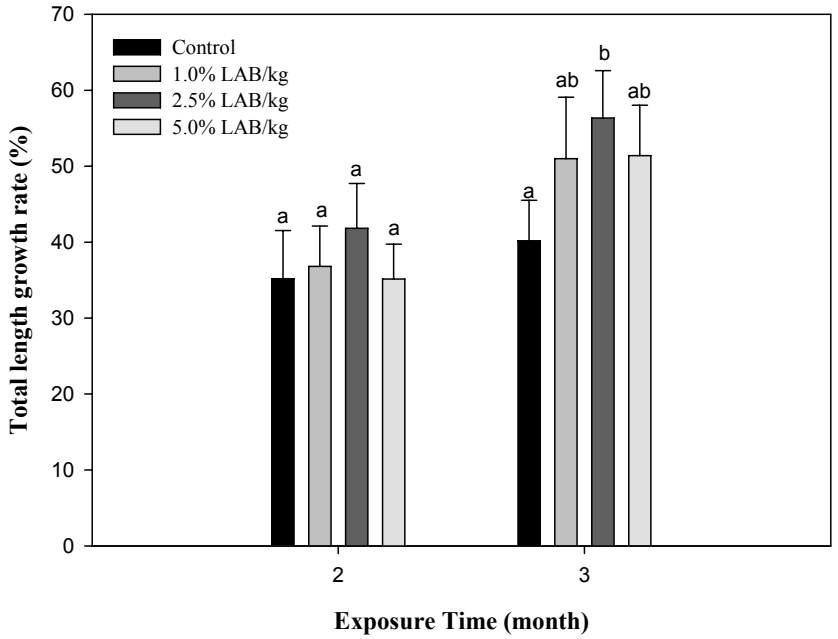

Fig. 1. Total length growth rate (%) of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

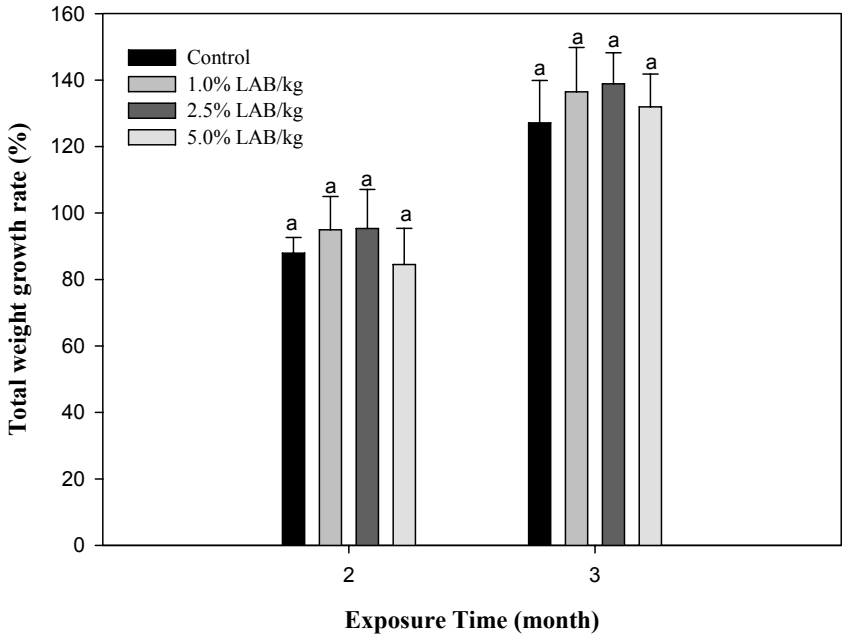

Fig. 2. Total weight growth rate (%) of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

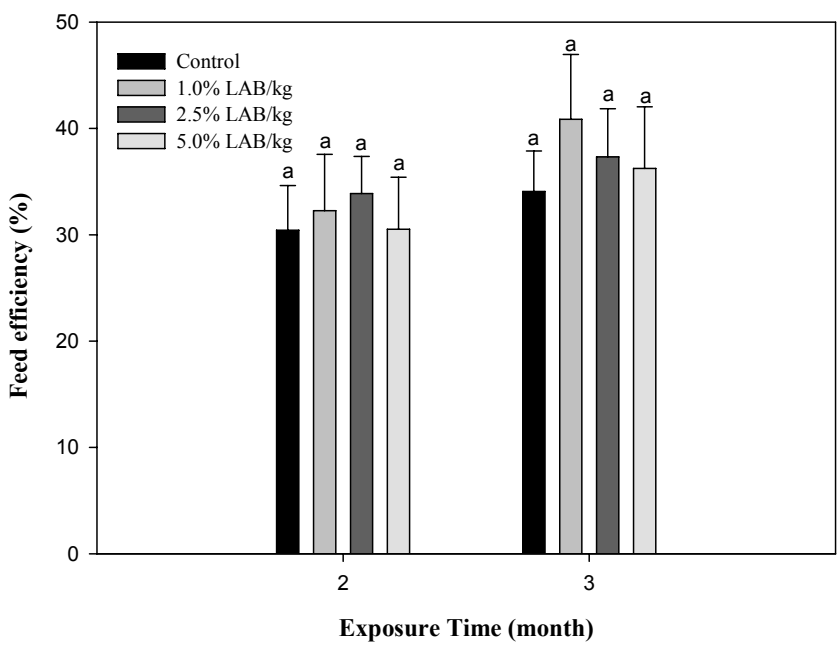

Fig. 3. Feed efficiency (%) of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

혈액분석

LAB의 첨가 사료에 의한 숭어의 혈액 성상, 즉 적혈구 수 (RBC count), 적혈구 용적 (Ht) 및 혈색소 농도 (Hb)는 약간의 변동이 있었으나, 대조구에 비해 유의한 변동은 관찰되지 않았다 (Table 3). 혈청 무기성분인 칼슘 (Ca), 마그네슘 (Mg) 및 유기성분인 글루코오즈 (glucose), 총 단백질 (total protein)도 LAB 첨가 사료 급이 및 급이 농도에 따라 유의한 변동이 없었다. 혈청 GOT와 GPT 활성은 LAB 첨가구에서 대체적으로 증가하는 경향을 보였으나, 대조구에 비해 모든 LAB 첨가 농도에 따른 유의한 차이는 관찰되지 않았다 (Table 4).

Table 3. Hematological parameters of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

Parameter	Month	LAB concentration (%)			
		0	1.0	2.5	5.0
RBC count (×104mm3)	2	292.5±34.5	323.9±21.2	316.4±25.7	301.8±21.6
	3	287.6±27.9	308.7±30.3	338.1±26.7	298.7±26.4
Ht (%)	2	29.5±2.8	32.6±2.9	27.9±3.1	31.1±3.7
	3	33.0±3.5	28.5±3.0	31.7±3.4	30.5±2.9
Hb (g/dL)	2	7.5±0.9	8.1±1.2	7.2±0.8	8.5±1.3
	3	7.9±1.1	8.4±1.4	6.9±1.2	8.0±1.5

Table 4. Serum parameters of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

Parameter	Time (Month)	LAB concentration (%)			
		Control	1.0	2.5	5.0
Calcium (mg/dL)	2	18.2±3.2	20.3±2.1	19.7±2.9	21.3±3.9
	3	20.9±2.8	18.9±3.4	17.8±4.2	19.0±3.8
Magnesium (mg/dL)	2	5.2±1.0	4.7±1.3	5.8±0.8	4.9±1.5
	3	4.2±1.1	5.3±1.6	4.7±0.7	5.5±1.4
Glucose (mg/dL)	2	43.1±8.9	48.5±9.1	50.3±5.1	46.4±8.9
	3	45.2±9.2	44.9±9.4	53.2±8.4	51.9±9.2
Total protein (g/dL)	2	2.9±0.8	2.7±1.2	3.0±0.7	3.2±0.9
	3	3.5±0.5	3.1±1.1	2.8±1.0	3.5±0.6
GOT (KU)	2	27.9±5.8	29.8±4.9	29.6±3.8	31.3±5.2
	3	28.1±3.9	27.5±5.1	31.0±6.3	28.9±4.6
GPT (KU)	2	32.3±6.0	34.5±4.7	36.5±3.9	31.8±6.2
	3	30.5±5.5	33.2±5.9	29.2±3.4	35.5±5.4

항산화 활성의 분석

LAB 급이에 따른 숭어 간에 있어 항산화 능을 검토하기 위하여 1,1-diphenyl-2-picrydrazyl(DPPH)를 이용하여 분석하였다. 숭어의 항산화 능은 2달 및 3달째 LAB의 첨가에 의해 대조구에 비해 증가하는 경향을 보였으나, LAB 1.0, 2.5% 첨가구에서 유의한 차이는 관찰되지 않았다. LAB첨가에 따른 항산화 능의 유의한 증가는 2달 및 3달째 LAB 5.0% 첨가구에서 나타냈다 ($P<0.05$, Fig. 4).

비특이적 면역

식세포 활성산소의 활성은 3개월 동안 대조구에 비해 LAB 첨가구에서 비교적 높은 활성을 유지하였고, 특히 LAB 5.0 % 첨가에 의해 2달째, LAB 2.5 % 첨가에 의해 3달째에 대조구에 비해 유의한 증가를 나타냈다 (Fig. 5). 혈청 lysozyme 활성은 LAB 모든 LAB 농도에서 대체적으로 증가하는 경향을 보였으나, LAB 1.0 % 첨가구에서는 대조구에 비해 유의한 증가가 관찰되지 않았다. 혈청 lysozyme 활성의 유의한 증가는 LAB 급이 2달 및 3달째 LAB 2.5 %에서 나타났다 ($P<0.05$, Fig. 6)

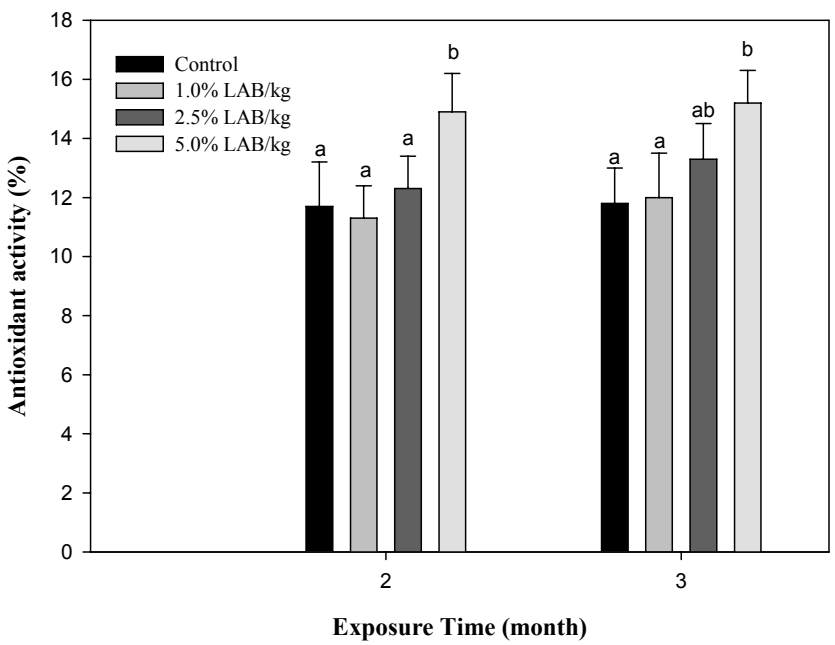

Fig. 4. Antioxidant activity (%) of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

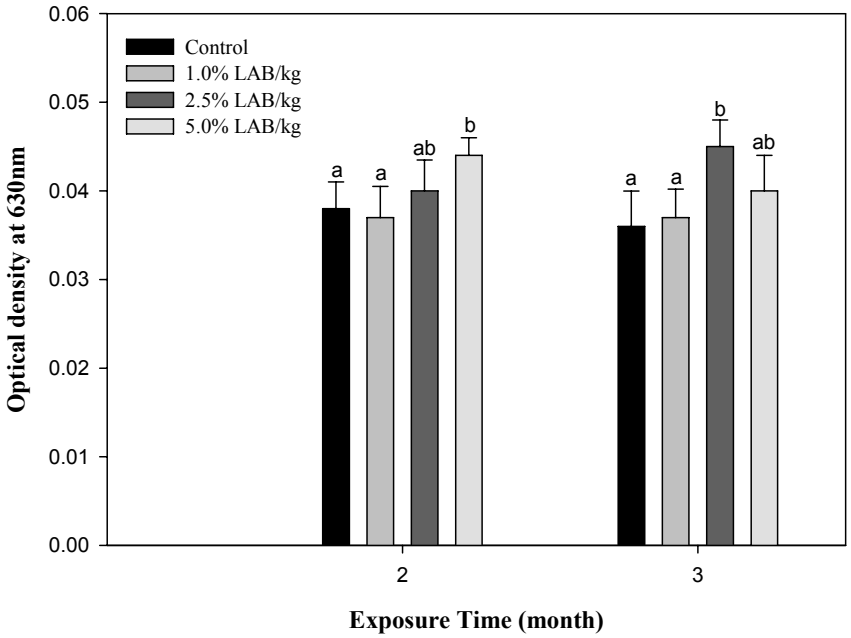

Fig. 5. NBT reduction of phagocytes in the kidney of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

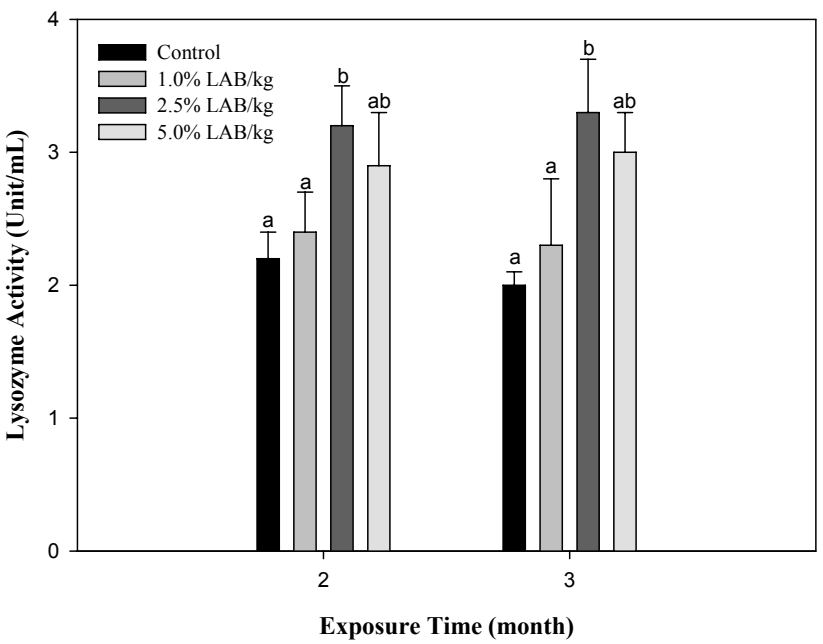

Fig. 6. Lysozyme activity(Unit/ml) of grey mullet, *M. cephalus* fed experimental diet for 3 months.

고 찰

최근 우리나라의 어류양식은 고밀도 사육에 따른 사육환경악화 및 질병 등에 의해 단위면적당 생산성이 감소되고 있으며, 이를 해결하기 위한 방법의 하나로 사료 내에 각종 생리활성 및 면역 증강 물질의 첨가에 의해 생산성을 향상시키려는 시도가 이루어지고 있다.

LAB를 첨가한 사료로 3개월 동안 숭어를 사육하여 체장, 체중 및 사료효율을 측정한 결과, 이들 값은 2개월까지는 대조구와 유사하게 나타냈으나, 3개월째에 LAB 2.5 %에서 체장 성장률이 대조구보다 유의하게 높게 나타났다. 어류에 있어 각종 사료첨가물은 그들의 생산성에 긍정적인 효과를 미치며, 이들 중에 어보산은 어류의 성장과 육질 개선에 긍정적인 효과를 미치고 (Kim *et al*., 1998c; Lee *et al*., 1998d), 생균제는 사료효율 및 성장을 촉진시키며 (Irr-ianto and Austin, 2002), 특히 *Bacillus* spp. 및 *Streptococcus* spp.는 무지개송어 및 차넬메기의 사료효율과 성장률을 증가시킨다 (Queiroz and Boyd, 1998; Raida *et al*., 2003). 또한 유산균 첨가사료는 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 성장을 촉진시킨다 (Aly *et al*., 2008). 따라서 본 연구의 LAB 첨가 사료, 특히 2.5 % 첨가는 숭어의 성장에 있어서도 긍정적인 효과를 미쳤을 것으로 생각된다.

어류의 혈액학적 변동은 어류의 영양 및 건강상태 등에 따라 변동할 수 있으며, 여러 가지 스트레스 및 질병에 대한 건강 지표로 활용될 수 있다. 특히 어류의 혈청 효소인 GOT 및 GPT는 간, 심장 및 근육 등의 손상을 나타내는 지표로 활용할 수 있다 (Garrido *et al*., 1990; Aly *et al*., 2008). 3개월 동안 LAB 첨가 사료를 공급한 숭어의 혈액성상은 대조구와 유사한 값을 보였고, 혈청 무기성분 (calcium, magnesium), 유기성분 (protein, glucose) 및 효소활성 (GOT, GPT)의 유의한 변동도 관찰되지 않았다. Aly *et al*., (2008)는 틸라피아, *Oreochromis niloticus*에 유산균 첨가사료를 2달 동안 투여한 결과, 혈액성상 변동을 관찰할 수 없다고 하였다. 또한 권 등 (2004)은 지방간 현상이 나타나는 흰쥐에 유산균 분말을 공급한 결과, 흰쥐의 GOT와 GPT 활성이 정상 수준으로 개선됨을 보고하였다. 따라서 유산균 배양액 첨가사료는 숭어의 혈액학적 변동에 특별한 영향을 미치지 않았을 것으로 생각되나, 지방간 등이 나타나는 비정상적인 숭어에 있어서는 긍정적인 효과를 기대 할 수도 있을 것으로 생각된다.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 측정은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되며, 동물체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는데 이용되고 있으며, 라디칼 소거작용은 동물의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 작용을 한다. 따라서 전자공여능의 측정은 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 효과가 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거 및 탈색되는 점을 이용하여 항산화 효과를 검정할 수 있다 (Singh *et al*., 2002; Takamatsu et a., 2003). 숭어의 항산화 능은 2달 및 3달째 LAB의 첨가에 의해 대조구에 비해 증가하는 경향을 보였으나, LAB 1.0, 2.5% 첨가구에서 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 유의한 증가는 2달 및 3달째 LAB 5.0% 첨가구에서 나타냈다. Lee *et al*. (2005)은 마카 사료 (maca meal)의 첨가에 의해 무지개 송어, *Oncorhynchus mykiss*의 DPPH radical 소거 효과가 증가된다는 것을 보고하였다. 따라서 본 연구의 LAB 첨가 사료, 특히 5.0 %의 첨가는 숭어에 있어 높은 항산화 능을 나타낼 것으로 생각된다. 일반적으로 소낭과 회장에서 채취된 유산

균은 소낭에 부착하는 능력을 가지며, 이것을 투여한 계군에서는 연변이 방지되고 총배설강의 폐쇄가 일어나지 않았다는 결과가 보고되었으며 (Adler and DaMassa, 1980), 또한 가축의 사료에 유산균제를 급여함으로써 가축의 장내에서 Escherichia coli를 억제 (Fuller, 1973; Bada *et al*, 1991), Salmonella와 Campyrobacter의 증식을 조절하는 기능을 가지며 (Weinack *et al*, 1985; Dunham *et al*, 1993) 장내 유익한 미생물의 수를 증가시켜(Fuller, 1989) 성장, 항산화 활성 및 면역반응을 증대시킨다(Tortuero, 1973; Dilworth and Day, 1978; Watkin *et al*, 1982; Jin *et al*, 1996, 1998; Mohan, 1996; Yeo and Kim, 1997).

고밀도의 어류양식은 많은 질병을 발생시킬 수 있으며, 이에 따라 각종 어류 질병에 대한 감수성을 감소시키고 면역력을 증강시킬 수 있는 사료첨가물에 대한 관심이 날로 높아지고 있으며, 특히 포유류의 면역증가 효과가 입증된 한약제 (Kwon *et al*., 1999), 해조류(Mustafa and Nakagawa, 1995) 및 유산균(Shida *et al*., 1998; Jun *et al*., 1999) 등에 대한 관심이 높다. Lysozyme은 세균 세포벽 성분 중의 peptidoglycan의 β-1,4-glycoside 결합을 가수분해하여 세균, 특히 세포벽의 주성분이 peptidoglycan인 그람 양성세균을 용해시키는 것으로 알려져 있으며, 이 외에도 옵소닌, 항바이러스 및 항암작용 등에도 관여를 함으로써 고등동물의 방어기작에 주요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다 (Jolles and Jolles, 1984).

LAB 첨가 사료를 투여한 숭어의 비특이적 면역기능, 즉 세포성 면역지표인 식세포 O_2^- 생성능과 체액성 면역 지표인 lysozyme 활성은 전반적으로 증가하는 경향을 보였으며, 특히 유산균 배양액 2.5 % 첨가에서 대조구에 비해 유의한 증가를 나타냈다. LAB를 급이한 숭어의 비특이적 면역 기능인 식세포 활성산소의 활성은 3개월 동안 대조구에 비해 LAB 첨가구에서 비교적 높은 활성을 유지하였고, 특히 LAB 5.0 % 첨가에 의해 2달째, LAB 2.5 % 첨가에 의해 3달째에 대조구에 비해 유의한 증가를 나타냈다. 또한 lysozyme 활성은 모든 LAB 농도에서 대체적으로 증가하는 경향을 보였으며, 유의한 증가는 LAB 급이 2달 및 3달째 LAB 2.5 %에서 나타났다. 한편 유산균 배양액 첨가 사료를 투여한 숭어의 lysozyme 활성은 대조구에 비해 전 반적으로 증가하였고, 특히 유산균 배양액 2.5 % 첨가는 대조구에 비해 유의하게 증가하였으나, 시간이 경과함에 따라 그 활성차이는 인정되지 않았다. 이는 유산균 첨가 사료에 의한 무지개 송어, *Oncorhynchus mykiss* 및 틸라피아, *Sarotherodon niloticus*의 기존의 연구결과와 일치하고 있다(Panigrahi *et al*., 2004; Aly *et al*., 2008). Aly *et al*., (2008)는 틸라피아, *Sarotherodon niloticus*에 있어 유산균 첨가에 의한 lysozyme의 활성은 시간이 경과함에 따라 유의한 차이는 없음을 지적하고 있다. 따라서 유산균 배양액 첨가사료에 의한 숭어의 lysozyme 활성은 유산균 배양액 첨가 농도에 따라 증가할 것으로 예상되나 투여기간에 따른 변동은 없을 것으로 생각된다. 일반적으로 사료 첨가물에 의한 lysozyme의 활성 증가는 lysozyme을 분비하는 식세포 수 혹은 이들 각 세포에 의해 합성되는 lysozyme의 양이 증가한 결과로 예상할 수 있다. 따라서 LAB 첨가에 의한 lysozyme 활성은 상기의 어느 기작에 의해 증가되었는지 명확하지 않으나, Robertsen *et al*.,(1994)은 어류의 lysozyme 활성에 있어 β-glucan은 식작용 및 전신 백혈구의 살균작용과 상응하여 영향을 미친다고 하였고, 이는 본 연구의 전신 식세포 O_2^- 생성능의 증가와 일치하고 있다.

이상과 같이 LAB 사료 첨가에 의해 숭어를 3개월 동안 사육한 결과, 숭어의 혈액학적 변동은 관찰되지 않았으나, 3개월부터 성장에는 긍정적인 효과를 보

였다. 특히 유산균 배양에 첨가사료에 의해 숭어의 항산화능이 증가하였으며, 비특이적 면역 기능, 즉 세포성 면역지표인 식세포 O_2^- 생성능과 체액성 면역지표인 lysozyme 활성이 증가하여 숭어의 면역증강 물질로의 가능성을 보였다. 따라서 숭어양식 과정에 있어 여러 가지 스트레스로 등으로 인하여 면역능이 감소하는 시기에 대비하여 유산균 배양액 첨가사료를 투여하는 방법을 긍정적으로 검토해 볼 필요가 있을 것으로 생각되나, 성장, 항산화능 및 비특이적 면역반응에서 각각 다른 첨가농도에서 그 영향이 나타나는 점을 감안하여 적정 첨가 농도를 고려할 필요가 있다.

참고문헌

Adler, H.E. and DaMassa, A.J.: Effect of ingested *Lactobacilli* on *Salmonella infantis* and *Escherichia coli* and on intestinal flora, pasted vents and chick growth. Avian. Dis. 24:868-878. 1980.

Aly, S.M., Ahmed, Y.A., Ghareeb, A.A. and Mohamed, M.F.: Studies on Bacillus subtilis and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infection. Fish Shell. Immuno. 25: 128-136. 2008.

Bada, E., Nagaishi, S., Fukata, T. and Arakawa, A.: The role of intestinal microflora on the prevention of *salmonella* colonization in gnotobiotic chickens. Poult. Sci. 70:1902-1907. 1991.

Baek Y.J. Lactic acid bacteria and human health. Korean J. Food Nutr. 6:53-65. 1993.

Chae, O., Shin, K., Chung, H. and Choe. T.: Immunostimulation effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillius plantarum* isolated from kimchi. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 13:424-430. 1997.

Dilworth, B.C. and Day, E.J.: *Lactobacillus* culture in broiler diets. Poult. Sci. 57:1101. 1978.

Dunham, H.J., William, C., Edens, F.W., Casas, I.A. and Dobrogosz, W.J.: *Lactobacillus reuteri* immunomodulation of stressor-associated disease in newly hatched chickens and turkeys. Poult. Sci. 72:103. 1993.

Fuller, R.: Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. J. Appl. Bacteriol. 36:131-139. 1973.

Fuller, R.: Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66:365-378. 1989.

Jin, K.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalaludin, S.: Influence of dried *Bacillus subtillis* and *Lactobacilli* cultures on intestinal microflora and performance on broilers. Asian-Australian J. Anim. Sci. 9:397-403. 1996.

Jin, K.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalaludin, S.: Growth performance, intestinal microbial population, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poult. Sci. 77:1259-1265. 1998

Jun, H.S., Choi, Y.K., Won, Y.S., Hun, B.H. and Kim, J.W. : Effects of lactic acid bacteria on infection of *Salmonella typhimurium* in mouse. Korean J. Dairy Sci. 21:171-182. 1999.

Mohan, B., Kadirvel, R., Natnragin, A. and Bhaskaran, M. : Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. Bri. Poult. Sci. 37:395-401. 1996.

Kaizu, H., Sasaki, M., Nakajima, H. and Suzuki, Y.: Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. J. Dairy Sci. 76:2493-2499. 1993.

Kato, I., Endo, K. and Yokokura, T.: Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. Int. J. Immunopharmacol. 16:29-36. 1994.

Kim, H.H. and Han, M.J.: Inhibition of intestinal bacteria enzymes by lactic acid bacteria. Yakhak Hoeji. 39:169-174. 1995.

Kim, H.S. and Ham, J.S.: Antioxidative ability of lactic acid bacteria. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 23, 186-192. 2003.

Lee, H.Y., Lee, Y., Park,J.H., Seok, S.H., Cho, S.A., Baek, M.W., Kim, D.J. and Park, J.H.: Effect of probiotic lactic acid bacteria isolates in Korea in cutaneous hypersensitivity rats. Korean J. Lab. Ani. Sci. 19:117-119. 2003.

Lee, K.J., Dabrowski, K., sandoval, M. and Miller, M.J.S.: Acitivity-guided fractionation of phytochemicals of meca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utiliziton, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. Aquaculture 244:293-301. 2005.

Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh S., and Sugita, H.: Immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. Vet. Immuno. Immuno. 102:379-388. 2004.

Park, S.Y., Ko, Y.T., Jung, H.K., Yang, J.O., Chung, H.S., Kim, Y.B. and Ji, G.E.: Effect of various lactic acid bacteria on the serum cholesterol levels in rats and resistance to acid, bile and antibiotics. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24:304-310. 1996.

Perdigon, G., Nader de Macias, M.E., Alvarez, S., Oliver, G. and Pesce de Holgado, A.A.: Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacilus acidophilus*. J. Dairy Res. 57:255-264. 1990.

Totuero, F.: Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversation, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poult. Sci. 52:197-203. 1973.

Rhim, K.H., Kim, J.G. and Han, J.H.: Effects of fermented milk on rats fed by hypercholiesterolemic diet. Korean J. Envrion. Hlth. Soc. 19: 77-89. 1993.

Shahani, K.M. and Ayebo, A.D.: Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. American journal of clinical nutrition. 33:2448-2457. 1980.

Shida K., Makino, K., Morishita, A., Takamizawa, K., Hachimura, S., Ametani, A., Sato, T., Kumagai, Y., Habu, S. and Kaminogawa, S.: Lactobacilli in gastrointestinal microecology. Am. J. Clin. Nutri. 33: 2448-2457. 1980.

Shin, K., Chae, O., Park, I., Hong, S. and Choe, T.: Antitumor effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 13, 357-363. 1998.

Singh, R.P., chidamdara, M. and Jaysprakasha, G.K.: Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum)* peel and seed extracts using *in vitro*. J. Agric. Food Chem. 50:81-86. 2002.

Takamatsu, s., Hodges, T.W., Rajbhandari, I., Gerwick, W.H., Hamann, M.T. and Nagle, D.G.: Marine natural products as novel antioxidant prototypes. J. Natural Products. 66:605-608. 2003.

Watkins, B.A. and Kratzer, F.H.: *In vivo* effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotic chicks. {oult. Sci. 61:1298-1308. 1982

Weinack, O.M., Snoeyenbos, G.H. and Soerjadi-Liem, A.S.: Further studies on competitive exclusion of *Salmonella typhimurium* by *lactobacilli* in chickens. Avian. Dis. 29:1273-1276. 1985.

Yeo, J.M. and Kim, K.I.:Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probitic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult. Sci. 76:381-385. 1997.

권진영, 최홍식, 송영옥. 고지방식이를 섭취한 흰쥐에서 김치유산균분말의 비만 억제 및 지질 저하 효과. 한국식품과학회지, 36(6):1014-1019. 2004.

Manuscript Received : March 8, 2010
Revised : September 20, 2010
Accepted : October 1, 2010