

김(*Porphyra yezoensis*)에서 추출한 당단백질의 사료내 첨가가 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 치어 성장 및 *Edwardsiella tarda* 저항성에 미치는 영향

김강웅 · 최정욱¹ · 김경덕 · 한현섭 · 안철민 · 이봉주 · 최윤희² · 남택정^{1*}

국립수산과학원 사료연구센터, ¹부경대학교 식품영양학과, ²부경대학교 수산과학연구원

Effect of Dietary Glycoprotein Extracted from *Porphyra yezoensis* on Growth Performance and Resistance against *Edwardsiella tarda* in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* Juveniles

Kang-Woong Kim, Jeong-Wook Choi¹, Kyoung-Duck Kim, Hyon-Sob Han,
Cheul-Min An, Bong-Joo Lee, Youn Hee Choi² and Taek Jeong Nam^{1*}

Aquafeed Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Pohang 791-923, Korea

¹Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Fisheries Science Research Center, Pukyong National University, Busan 619-911, Korea

This study examined the effects of dietary glycoprotein extracted from *Porphyra yezoensis* on growth performance and resistance against the pathogenic bacteria *Edwardsiella tarda* in olive flounder. A porphyra-originated glycoprotein (P) was extracted using sequential processes of water and ethanol treatment. P extracts were added to a fish-meal-based diet at concentrations of 0.0, 0.5, and 1.0% (designated as Con, P_{0.5}, and P_{1.0}, respectively). Fish were fed one of the three experimental diets for 10 weeks. All fish groups exhibited over 96.7% survival during the experimental period. Results indicated that the fish fed diets containing P showed an increase in growth performance, including enhanced weight gain, specific growth rate, and feed efficiency. An increase in insulin-like growth factor (IGF-1) was observed in the fish fed the P_{1.0} diet, as compared to those fed Con. At the end of the 10-week feeding trial, all fish were infected with *E. tarda*, and accumulated mortality was monitored for 8 days. Fish fed the Con diet exhibited increasing mortality from day 3 to the end of the challenge test, whereas the mortality of P-fed fish ceased at day 5. We suggest that supplementation with P-originated glycoprotein in aquafeed may increase growth performance and resistance against pathogenic bacteria in olive flounder juveniles.

Key words: Olive flounder, Porphyra, Glycoprotein, IGF-I, *Edwardsiella tarda*

서 론

최근에는 어류의 성장 증진 목적 이외에 사료효율, 면역능력 및 어체 일반조성 향상을 목적으로 배합사료에 여러 기능성 물질을 첨가한 배합사료 개발 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Kim et al., 2011). 특히, 단백질 합성과 세포 성장을 촉진시킬 수 있는 사료 첨가물 연구는 배합사료를 이용한 양식어류의 성장을 극대화 시키는 측면에서 앞으로 지속적으로 수행될 연구

주제일 것이다.

사료 첨가제를 이용한 배합사료 개발에는 양식어의 성장 촉진은 물론 면역력 증강을 통해 양식어의 패사율을 낮추는 목적으로도 연구되고 있다. 최근 기능성 사료 개발을 위해 천연물에서 기능성 물질을 찾고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다 (Kim et al., 2006; Cho et al., 2006). 따라서 본 연구에서도 천연물중 하나인 우리나라 해조류 중에서 생산량이 높으며 단백질 함유량이 높은 김을 이용하여 새로운 기능성 배합사료 소재

Article history;

Received 8 October 2012; Revised 28 November 2012; Accepted 7 December 2012

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5846 Fax: +82. 51. 629. 5842

E-mail address: namtj@pknu.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 45(6) 606-611, December 2012

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0606>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science. All rights reserved

를 개발하기 위해 시도하였다. 김은 홍조식물 보라털목 보라털과의 해조류로서 한국, 일본, 중국의 연안에 분포하고 양식도 가능하여 쉽게 접할 수 있는 해조류중의 하나로서 최근 해조류에 관한 관심이 높아지면서 이에 따른 연구도 활발히 진행되는 중이다.

해조류는 식품으로서뿐만 아니라 그들이 가진 다당류의 기능성으로 인해 많은 연구가 진행되고 있으며, 특히 해조류 중 김과 같은 홍조류는 10-47% (건조중량)의 단백질을 함유하고 있어 식물에서는 중요한 단백질원으로 보고 되고 있다(Fleurence, 1999). 홍조류인 *Porphyra umbilicalis* 에서 추출한 다당류인 porphyran은 주로 아시아에서 소비되고 있으며, 콜레스테롤 수치를 감소시키고 항생제와 항암 효과를 가지고 있으며(Koo et al., 1995; Hong et al., 1997), fucoidan 은 항염증 및 항산화효과를 가지는 것으로 보고 되고 있다(Nishino et al., 1991; Takashi and Terukawu, 1991; Koo et al., 1997). 한편, 방사무늬김 *Porphyra yezoensis* 의 추출물인 당단백질은 rat를 대상으로 한 *in vivo* 상에서 간 손상에 대한 회복기능(Hwang et al., 2008)과 항염증효과를 가지는 것으로 보고되어(Shin et al., 2011) 해조류가 가진 생리활성물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 것을 알 수 있다. 최근에는 이러한 해조류가 가진 생리활성물질을 어류 양식에 적용시키고자 하는 연구가 진행되고 있으며, Mustafa et al. (1995)는 red sea bream을 대상으로 그 유효성을 연구한 바 있다.

현재까지 동물 및 세포의 성장인자는 많이 알려져 있으나 단백질 영양 및 동물성장과 밀접한 관련이 있는 Insulin-like growth factor-I (IGF-I)은 70개의 아미노산으로 이루어진 polypeptides로서 proinsulin과 구조적으로 유사하다 (Sparkman et al., 2012). IGF-I은 척추동물에서 성장호르몬의 매개로 생성되어 동물의 성장에 중요한 역할을 하고 있으며 세포의 성장, 분화, 대사에 다양한 효과를 보여주고 있다 (Baxter, 1993). Insulin과 유사한 대사효과를 발휘하면서도 (Caro et al., 1988) insulin과는 달리 IGFs는 주로 간에서 생성, 분비되면서 그 외 뇌하수체, 난소, 뼈 등과 같은 다른 기관에서도 생성되며 체성장을 가속화시키고 여러 조직의 성장을 선택적으로 유도할 뿐만 아니라 *in vivo*에서 단백질의 합성을 촉진시킨다.

이전 실험에서는 김에서 추출한 당단백질을 세포를 이용한 실험에서 정상근육세포의 성장을 촉진시킨 결과를 확인하였고 세포수준에서 확인된 성장효과가 *in vivo* 상태에서 넘치의 성장과 면역에도 영향을 미칠 것이라는 가정하에 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

김으로부터 당단백질의 추출

2010년 5월에 전라남도 완도군에서 채취하여 말린 건조김을 사용하였고 당단백질 추출과정은 Fig. 1에 나타내었다. 분쇄된

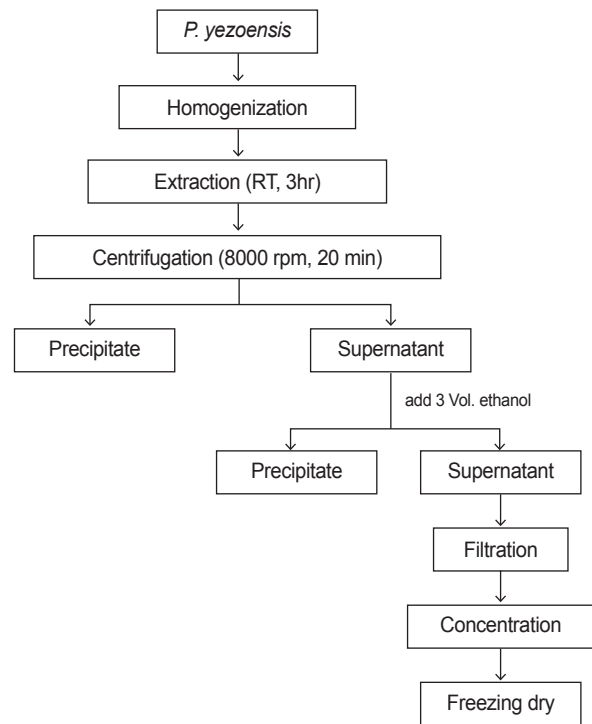


Fig. 1. Purification of glycoprotein from *Porphyra yezoensis*.

김 분말 600 g을 대용량 추출용기에 넣고 증류수 15 L에 침지하였다. 실온에서 3시간 동안 교반하면서 추출한 다음, 5,000 rpm 4℃에서 20분간 원심분리하여 상층액을 취해 3배 부피의 에탄올을 첨가하고 침전된 당을 부호너 깔대기로 제거한 뒤 여액을 취해 감압농축하였다. 완전히 농축하여 에탄올과 수분을 제거한 시료에 다시 증류수를 첨가하여 용해시킨 다음 이를 동결건조하여 실험에 사용하였다.

실험어 및 사육조건

실험에 사용된 실험어류는 경남 통영 스마일사료거제양식장에서 수송된 넘치 육성어를 운반하여 10 ton 원형수조에서 실험 환경에 적응할 수 있도록 2주간 예비사육을 실시하였으며, 예비사육 기간 동안 상품 배합사료를 공급하였다. 예비사육 후 넘치 육성어 (초기 평균중량: 92.5±2.21 g)는 총 18개의 2 ton PP원형수조에 각 수조 당 30 마리씩 무작위로 배치하였고 사료공급실험은 실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 3-5 L/min 의 유수량이 공급되도록 조절하였다. 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 전 실험기간 동안 평균 수온은 21.8℃ (18.5-24.1℃) 범위로 자연수온에 의존하였으며, 실험사료는 1일 2회(09:00 h 와 16:00 h)에 나눠서 10주 동안 반복공급을 실시하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (%) ¹	Diets		
	Con	P _{0.5}	P _{1.0}
White fish meal	65.6	65.6	65.6
Soybean meal	3.0	3.0	3.0
Wheat flour	19.9	19.9	19.9
Squid liver oil	5.5	5.5	5.5
Porphyra extract	0.0	0.5	1.0
Vitamin premix ²	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ²	1.0	1.0	1.0
CMC	3.0	3.0	3.0
Cellulose	1.0	0.5	0.0
Proximate analyses (% dry matter basis)			
Crude protein	51.9	52.0	52.1
Crude lipid	12.0	12.1	12.2
Crude ash	10.8	10.8	10.9

¹Provided by Suhyup Feed Co., Kyong-Nam, Korea.

²Premix (mg/kg) : KI 250, MnSO₄·H₂O 2800, ZnSO₄·H₂O 2350, vitamin K 225, biotin (2%) 3500, niacin 4850, calcium pantothenate 11000, folic acid 2000, vitamin B₁ 1500, vitamin B₂ 2000, vitamin B₆ 2000 and vitamin C 50000.

실험사료

넙치 실험에 사용된 실험사료의 사료원료 및 일반성분 조성은 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 김(*P. yezoensis*) 당단백질(glycoprotein)을 각 0.5% (P_{0.5}), 1% (P_{1.0}) 농도별로 첨가한 실험사료와 김 당단백질을 첨가하지 않은 대조사료(Con)로 설계하였다. 실험사료의 원료로는 어분, 탈피대두박을 주요 단백질원으로 이용하였고, 소맥분을 주요 탄수화물원으로 이용하였으며, 오징어간유를 주요 지질원으로 사용하였다. 대조구를 제외한 김 당단백질 사료에는 각각의 첨가제 원료를 셀룰로스 대신에 첨가하였다. 실험사료 제조는 우선 모든 사료원들을 파쇄기를 이용하여 분말형태로 일정하게 만들고, 각 사료원들을 사료조성표에 따라 정확히 중량을 잰 후, 잘 섞은 다음 사료원 총량의 30-40%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기(NVM-14-2P, KOREA)로 혼합, 반죽시켰다. 혼합반죽물은 소형초파기(SMC-12, KOREA)를 이용하여 직경 3 mm 크기로 성형되었다. 성형된 실험사료는 -70℃ 동결냉동 건조기에서 건조시켜, 시브(sieve)를 이용하여 적당한 크기의 사료로 가공되었으며, 사료 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관되었다.

성장도 조사

어체 무게 측정은 5주 간격으로 실시하였으며, 24시간 절식

시킨 후 MS-222 (100 ppm)로 마취시켜 전중량을 측정하였다. 실험 종료후, 증중율(weight gain, WG), 사료효율(feed efficiency, FE), 일간성장률(specific growth rate, SGR) 및 생존율(survival rate)을 조사하였다. 일반성분은 실험사료와 전어체를 AOAC (2000)방법에 따라 수분은 상압가열건조법(105℃, 4시간), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, Soxtec system 1046 (Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다.

혈중 IGF-1 활성

혈액중의 IGF-1 activity를 측정하기 위해 Human IGF-1 EIA kit (K032112, Komabiotech, Korea)를 사용하여 분광광도계(Ultraspec 2001 pro, Amersham Pharmacia biotech, England)로 450 nm에서 흡광도 측정하였다. 즉, Antigen-affinity purified Goat anti-Human IGF-1 pre-coated 96-well plate에 standard와 혈청을 100 µL 첨가하여 실온에서 2시간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. 0.32 µg/mL detection antibody를 well에 100 µL씩 첨가한 후 실온에서 2시간 반응시켜 세척한 후에 color development enzyme (1:20 dilute)를 well에 100 µL 첨가하여 실온에서 30분 반응시켰다. 반응이 완료되면 세척하고, color development solution을 100 µL 첨가하고 실온에서 색이 변하면 stop solution을 첨가한 다음 micro plate reader (Bio-Rad, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군을 백분율로 환산하였다.

병원성 균주 저항성 실험

김 당단백질 첨가제를 공급한 넙치의 병원성 세균에 대한 저항성을 조사하기 위하여 *Edwardsiella tarda* 사용하여 공격실험을 수행하였다. 각 실험구별로 5마리씩에 대하여 *E. tarda* GY-01 strain (0.99×10^6 - 2.8×10^6 CFU/fish)를 복강내 주사하여 대조구에 대한 상대 생존율을 조사하였다.

통계처리

실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차(mean ± S.D.)를 사용하여 표기하였으며, 모든 자료는 Windows용 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하여 처리하였고, 반복측정에 의한 ANOVA test를 한 후 Duncan's multiple range test로 유의성 검증을 실시하였다. 모든 통계적 유의도 수준은 $P < 0.05$ 에서 결정되었다.

결과 및 고찰

성장도 조사

Table 2. Proximate composition of Porphyra and its extract

	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Carbohydrate ¹
Porphyra	8.48±0.24	39.97±0.01	1.25±0.04	8.18±0.03	42.12
Water extract	9.58±0.06	38.79±0.05	3.03±0.00	20.73±0.15	27.87

¹100-(Moisture + Crude lipid + Crude protein + Crude ash)

Table 3. Growth performance, survival and feed utilization of olive flounder fed the experimental diets for 10 weeks¹

Diets	IAW (g)	SUR (%)	WG (%) ²	SGR (%) ³	FE (%) ⁴	DFI (%) ⁵
Con	93.5±0.9	96.7±0.0 ^{ns}	157±6.0 ^b	1.26±0.04 ^b	82.8±4.7 ^b	1.8±0.1 ^{ns}
P _{0.5}	93.3±1.2	100	174±3.6 ^a	1.34±0.02 ^a	91.1±2.8 ^a	1.8±0.1
P _{1.0}	93.7±1.2	100	175±3.8 ^a	1.35±0.02 ^a	92.1±0.5 ^a	1.9±0.1

^{ns}Not significant ($P>0.05$).

¹Values (mean ± SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

²Weight gain = (final fish wt. - initial fish wt.)×100/initial fish wt.

³Specific growth rate = [ln(final fish wt.) - ln(initial fish wt.)]×100/days of feeding.

⁴Feed efficiency = wet weight gain×100/feed intake.

⁵Daily feed intake = feed intake×100/[(initial fish wt. + final fish wt. + dead fish wt.)×days reared/2]

김 당단백질을 사료첨가제로서 사용하여 넙치의 10주간 증체율, 사료효율, 일간 성장률, 일간 섭취율, 생존율의 실험결과 및 성분분석 결과는 Table 2 - 4에 나타내었다. 일간사료섭취율 및 생존율에 있어서는 모든 실험구에서 유의한 차이를 나타내지 않았다($P>0.05$). 김 당단백질 실험구는 대조구와 비교하여 어체중의 유의적인 증가가 나타났으며, 김 당단백질 실험구(P_{0.5} 및 P_{1.0})가 대조구(Con)에 비해 각각 약 10%, 11% 증가되었다($P>0.05$). 일간성장률과 사료효율에서도 김 당단백질 실험구(P_{0.5} 및 P_{1.0})가 대조구(Con) 보다 유의하게 높은 경향을 나타내었다 ($P>0.05$). 따라서, 김 당단백질의 섭취가 넙치 성장에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 이와 유사한 결과가 yellowtail을 대상으로한 실험에서 보고되었다. Fukada et al. (2009)은 40일간의 *P. yezoensis* 첨가실험을 수행한 결과 사료내 2% 첨가 실험구에서 성장과 사료효율이 개선되는 경향을 보고하였다. 한편, 넙치에서 감태를 사료내 첨가하였을 때는 성장이 감소하였으며(Kim and Lee, 2008), 무지개송어에서도 *P. dioica*를 사료내 첨가하였을 때 성장이 감소하는 결과를 보였다(Soler-Vila et al., 2009). 이와 유사한 결과는 grey mullet (Davies et al., 1997), red sea bream (Mustafa et al., 1995), European sea bass (Valente et al., 2006)에서도 보고되었다. 나일틸라피아에서는 *P. yezoensis*의 농도에 따라서 성장이 증감하는 것을 보고하여(Stadlander et al., 2012), 해조류의 종류와 농도 및 어종에 따라서도 그 영향이 다르게 나타났다. 그러나 본 연구에서는 김 당단백질이 효과적인 것으로 나타났으며, 본 실험기간이 10주인 것을 고려해 보았을 때 장기간 김 당단백질을 첨가한 사료를 공급한다면 더욱 확연한 차이를 나타낼 것으로 생각되며 출하시기 역시 앞당길 수 있을 것으로 기대된다.

Table 4. Proximate composition (%) of the whole body in flounder fed the experimental diets for 10 weeks¹

	Diets		
	Con	P _{0.5}	P _{1.0}
Crude protein (%)	70.1	70.5	70.5
Crude lipid (%)	10.1	9.17	9.69
Crude ash (%)	16.0	15.5	15.8

¹Values (mean±SE of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

혈액중 IGF-1 활성화

Insulin-like growth factor type 1 (IGF-1)은 성장촉진과 관련된 생화학적인 지표로서 IGF-1은 70개의 아미노산으로 구성되어 있는 single chain polypeptide의 증식 및 세포분화 촉진 등 다양한 역할에 직접적으로 관여하는 성장인자이다(Sparkman et al., 2012). 간에서 생성되며 혈액을 통해 전신으로 운반되어 근조직의 형성에도 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있으며, 최근 연구에서는 Chilean flounder (*Paralichthys adspersus*)에서 IGF-1과 IGF-1 Receptor가 유생발달 중 신경시스템, 근육, 골 구조 형성에도 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다(Escobar et al., 2011).

이전에 보고된 연구에서는 넙치의 크기를 달리하여 혈액 중 IGF-I의 함량을 측정하였을 때 체중의 증가에 따라 IGF-I의 함량이 달라지는 결과가 보였다(Nam et al., 1996). 본 연구에서도 사육한 넙치 혈액을 채취하여서 IGF-1을 측정한 결과(Fig. 2), 대조구에 비하여 김 당단백질을 배합하여 만든 사료를 섭취

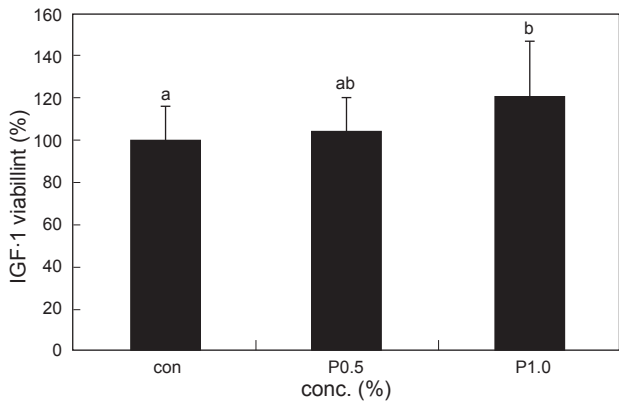


Fig. 2. Insulin-like growth factor (IGF-1) activity of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed experimental diets for 10 weeks.

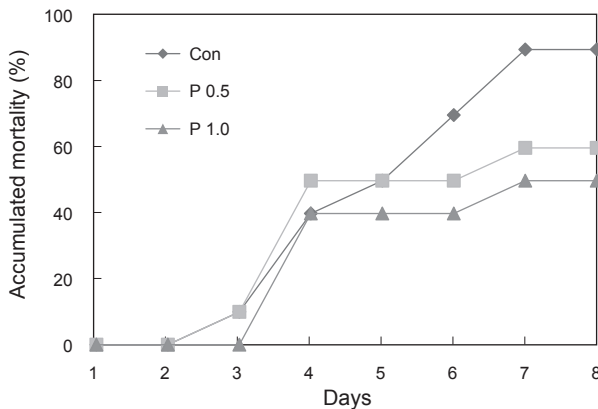


Fig. 3. Accumulated mortality (%) of olive flounder *Paralichthys olivaceus* for 8 days after the last feeding of 10 weeks. Fish were infected by *Edwardsiella tarda*.

한 군에서 농도 유의적으로 IGF-1의 분비와 활성이 더 높은 것으로 관찰되었다. 즉, 김 당단백질의 첨가로 인해 혈중 IGF-1의 활성이 높아졌으며, 이는 김 당단백질을 섭취한 넙치가 대조구에 비해 10-11%의 어체중 증가의 결과를 나타낸 것으로 사료된다. 따라서, 김 당단백질을 섭취한 넙치가 일반사료를 섭취한 넙치보다 성장속도가 더 빠를 뿐 아니라 면역증강의 효과도 가져올 것으로 예상된다. Fukada et al. (2009)은 40일간의 *Porphyra yezoensis* 첨가실험을 수행한 결과 사료내 2% 첨가 실험구에서 성장과 사료효율이 개선되는 경향을 보인다. 간에서 Fructose-1,6-bisphosphate, phosphogluconate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 흑색근에서 carnitine palmitoyltransferase II 효소 활성이 함께 증가한 것으로 보고되었다. 이와 같은 효소활성은 IGF-1의 영향과 직접적으로 관여되며, 본 실험에서의 성장개선 효과와 관련된 것으로 사료된다.

병원성 균주 저항성 실험

*E. tarda*는 그람 음성의 장내세균과의 주요 어병 세균으로 어류에 edwardsiellosis를 유발하는 진신감염성 병원체로서 양식산업에 커다란 피해를 주고 있다(Miwa and Mano, 2000). *E. tarda*균은 넙치에 감염되어 질병을 일으키는데(Bang et al., 1992), 일반적인 임상증상으로서 복수에 의한 복부팽만, 안구백탁, 체색흑화, 탈장, 항문부위의 출혈, 그리고 간, 신장, 비장이나 아가미에 작은 흰색 결절 형성 등으로 알려져 있다(Mohanty and Sahoo, 2007). 10주 동안 김 당단백질을 함유한 사료를 급이하고 질병이 없는 건강한 넙치 10마리씩을 무작위로 추출하여 *E. tarda* 세균에 감염시킨 후 누적폐사율 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 해조추출물인 김 당단백질 첨가에 따라 어병세균에 대한 저항성을 알아보기 위해 실시한 공격실험 결과, 접종한지 3일째 급격히 폐사하는 경향을 보였으나, 5일째부터는 김 당단백질 실험구들에서는 대부분 폐사하지 않았다(Fig. 4). Kim et al. (2002)과 Choi et al. (2004)는 aloe 0.5%와 song-gang stone 0.5% 사용한 결과 *E. tarda*에 대한 내병성이 있는 것으로 보고하였다. 이와같은 결과는 본 실험에서 사용한 사료 내 김 당단백질의 첨가가 넙치의 성장을 촉진시킬 뿐만 아니라 김에 포함된 생리활성 물질이 넙치의 비 특이적 면역반응을 증강시켜 *E. tarda*의 질병에 대한 저항성을 향상시키는 것으로 사료된다. 따라서, 김 당단백질의 사료 내 첨가는 넙치의 성장 및 내병성에 좋은 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원 (친환경 실용배합사료 개발 및 품질관리 연구, RP-2012-AQ-112)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

AOAC(2002). Official Methods of Analysis, 16th edition, AOAC International, Arlington, Virginia, U.S.A.
 Baxter RC. 1993. Circulating binding proteins for the insulin-like growth factors. Trends Endocrinol Metab 4, 91-96.
 Caro J, Raju SM, Sinha MK, Goldfine ID and Dohm GL. 1988. Heterogeneity of human liver, muscle, and adipose tissue insulin receptor. Biochem Bioph Res Co 151, 123-129.
 Cho SH, Lee SM, Park BH, Ji SC, Kwon MG, Kim YC, Lee JH, Park S and Han HK. 2006. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on immune system and challenging test of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. J Aquacult 19, 84-89.
 Davies SJ, Brown MT and Camilleri M. 1997. Preliminary assessment of the seaweed *Porphyra purpurea* in artificial diets for thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). Aquaculture 152, 249-258.

- Escobar S, Fuentes EN, Poblete E., Valdés JA, Sfián D, Reyes AE, Álvarez M and Molina A. 2011. Molecular cloning of IGF-1 and IGF-1 receptor and their expression pattern in the Chilean flounder (*Paralichthys adspersus*). *Comp Biochem Physiol, Part B* 159, 140-147.
- Fleurence J. 1999. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci Tech* 10, 25-28.
- Fukada H, Tadokoro D, Furutani T, Yoshii K, Morioka K and Masumoto T. 2009. Effect of discolored Porphyra meal supplemented-diet on growth performance and lipid metabolism in yearling yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Nippon Suisan Gakkaishi* 75, 64-69.
- Hong SP, Koo JK, Jo KS and Kim DS. 1997. Physicochemical characteristics of water of alcohol soluble extracts from laver, *Porphyra yezoensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26, 10-16.
- Hwang HJ, Kwon MJ, Kim IH and Nam TJ. 2008. Chemoprotective effects of a protein from the red algae *Porphyra yezoensis* on acetaminophen-induced liver injury in rats. *Phytother Res* 22, 1149-53.
- Kim KD, Seo JY, Hong SH, Kim JH, Byun HG, Kim KW, Son MH and Lee SM. 2011. Effects of dietary inclusion of various additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid composition, gene expression and histopathological changes in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Kor J Fish Aquat Sci* 44, 141-148.
- Kim MJ, Kim MC, Kim T, Kim KY and Heo MS. 2006. Effect of dietary supplementation of extracts of mushroom mycelium on survival and growth of juvenile flounder, *paralichthys olivaceus*. *J Aquacult* 19, 231-235.
- Kim SS and Lee KJ. 2008. Effects of dietary kelp (*Ecklonia cava*) on growth and innate immunity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et aSchlegel). *Aquacult Res* 39, 1687-1690.
- Koo JG, Chang SH, Kim JB and Cho KS. 1995. Chemical properties of fucoidans from *Hizikia fusiformis* and *Sargassum fulvellum*. *Bull Korean Fish Soc* 28, 659-666.
- Koo JG, Chang SH, Kim JB and Cho KS. 1997. Chemical characteristics of fucoidan extracted from the Korean brown seaweed. *Food Sci Indust* 30, 157-163.
- Mustafa MG, Wakamatsu S, Takeda TA, Umino T and Nakagawa H. 1995. Effects of algae meals feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red-sea bream. *Fisheries Science* 6, 25-28.
- Nam TJ, Park KY, Lee YD and Kim YU. 1996. Serum levels of insulin-like growth factor-I in Flounder, *Parlichthys olivaceus*. *J Korean Fish Soc* 29, 150-156.
- Nishino T, Aizu Y and Nagumo T. 1991. Antithrombin activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Thromb Res* 62, 765-773.
- Shin ES, Hwang HJ, Kim IH and Nam TJ. 2011. A glycoprotein from *Porphyra yezoensis* produces anti-inflammatory effects in liposaccharide-stimulated macrophages via the TLR4 signaling pathway. *Int J Molecul Med* 30, 734-738.
- Soler-Vila A, Coughlan S, Guiry MD and Kraan S. 2009. The red alga *Porphyra dioica* as a fish-feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, feed efficiency, and carcass composition. *J Appl Phycol* 21, 617-624.
- Sparkman AM, Schwartz TS, Madden JA, Boyken SE, Ford NB, Serb JM and Bronikowski AM. 2012. Rates of molecular evolution vary in vertebrates for insulin-like growth factor-1 (IGF-1), a pleiotropic locus that regulates life history traits. *Gen. Compar. Endocrinol.* 178, 164-173.
- Stadtlander T, Khalil WKB, Focken U and Becker K. 2012. Effects of low and medium levels of red alga nori (*Porphyra yezoensis* Ueda) in the diets on growth, feed utilization and metabolism in intensively fed Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquacult Nutri*, doi: 10.1111/j.1365-2095.
- Takashi N and Terukawu N. 1991. The sulfate-content dependence of the anticoagulant activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Carbohydr Res* 214, 193-197.
- Valente LMP, Gouveia A, Rema P, Matos J, Gomes EF and Pinto IS. 2006. Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 252, 85-91.