

# 사료 내 nucleotide 첨가가 틸라피아(*Oreochromis niloticus*)의 성장, 사료효율 및 비특이적 면역력에 미치는 영향

송진우 · 임세진<sup>1</sup> · 오대한 · 차지훈 · 이경준<sup>2\*</sup>

제주대학교 해양생명과학과, <sup>1</sup>CJ 제일제당주식회사 Global 기술마케팅, <sup>2</sup>제주대학교 해양과환경연구소

## Effects of Dietary Supplementation with Nucleotide on Growth Performance, Feed Utilization, and Non-Specific Immune Responses of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*

Jin-Woo Song, Se-Jin Lim<sup>1</sup>, Dae-Han Oh, Ji-Hoon Cha and Kyeong-Jun Lee<sup>2\*</sup>

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>1</sup>Department of Global Technical Marketing, CJ CheilJedang Corporation, Seoul 157-724, Korea

<sup>2</sup>Marine and Environment Research Institute, Jeju National University, Jeju 695-814, Korea

The present study examined the effects of dietary supplementation with nucleotide (inosine monophosphate product, IMP) on the growth performance, feed utilization, and non-specific immune responses of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. Triplicate groups of tilapia (initial body weight, 7.4±0.04 g) were fed experimental diets containing 0%, 0.05%, 0.1%, and 0.2% IMP. Fish were fed six times a day until apparent satiation for 13 weeks. At the end of the feeding trial, final body weight and food utilization of fish fed 0.1% IMP were significantly higher than those of fish fed the control diet. Results of hematological parameters were not affected by dietary IMP. However, blood protein level was significantly higher in the 0.05% treatment, as compared to that of the control and 0.2% IMP diets. Myeloperoxidase activity was higher in fish fed 0.1% IMP than in fish fed the control and 0.2% IMP diets. These results suggest that dietary supplementation with IMP can enhance the growth performance, feed utilization, and innate immune response of juvenile tilapia. The optimal IMP supplementation level appears to be 0.1% in practical feed formulations for tilapia.

Key words: Tilapia, Growth performance, Nucleotides, Inosine monophosphate, Non-specific immune response.

### 서 론

뉴클레오티드(nucleotide, NT)는 핵산을 구성하는 단위체로서 인산, 당, 염기로 구성되어 생리·생물학적 기능에 중요한 역할을 수행한다(Carver and Walker, 1995). NT는 신생합성과 우회경로합성을 통한 체내합성이 일어나지만, 그 양이 충분하지 않아 외부음식물을 통해 공급해 주어야 한다(Rudolph, 1994; Carver and Walker, 1995; Grimbale and Westwood, 2000). 외부로부터 공급된 NT는 효소활성 및 대사에 필요한 에너지를 공급한다(Cosgrove, 1998). 육상동물 사료 내 NT의 첨가는 림프구와 대식세포 활성화, 면역글로블린 활성화 및 특정 cytokine의 유전자 발현 증가에도 영향을 미치며(Carver et

al., 1990; Gil, 2002), 수중동물에 있어서는 사료유인성(Mackie, 1973)을 증가시켜 새로운 첨가물질로 보고되었다(Kiyohara et al., 1975; Li and Gatlin, 2006). Inosine monophosphate (IMP)는 purine계 화합물로서 NT 대사에 중요한 역할을 하고, 맛을 내는 물질로 알려져 어류의 사료섭이율(Adamek et al., 1996; Kubitzka et al., 1997)을 높여 성장률과 사료효율을 증가시킨다. 또한, 면역력 증진에 효과가 있다고 보고되었지만(Li and Gatlin, 2006; Li et al., 2007; Lin et al., 2009) 현재까지 정확한 메커니즘은 밝혀지지 않았다.

틸라피아는 우리나라 및 동남아시아, 남아프리카 주변의 열대지방과 아열대지방에서 양식되고 있는 담수어종이다. 성장과 번식이 빨라 양식어종으로 각광받고 있지만(El-Sayed,

#### Article history;

Received 31 July 2012; Revised 18 October 2012; Accepted 29 November 2012

\*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3423 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: kjlee@jejunu.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 45(6) 648-653, December 2012

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0648>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

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

2006), 병원성 미생물에 의한 감염으로 성장저하 및 대량폐사와 같은 문제점이 발생하고 있다. 어류의 질병치료를 위한 항생제 사용량은 증가하고 있으며, 약품구입에 따른 경제적인 손실도 무시할 수 없다. 최근에는 어류의 성장 및 비특이적 면역 반응을 향상시키기 위한 연구들이 진행되면서 항생제 사용 감소와 양식생물의 항생제 잔류에 따른 문제점을 해결할 수 있는 효과적인 대처방안이 제시되고 있다(Kim and Lee, 2008; Kim et al., 2009; Kim et al., 2010; Song et al., 2011). 따라서 이번 연구에서는 틸라피아를 대상으로 IMP의 첨가량을 달리한 사료를 공급하였을 때 성장, 사료효율 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험사료

4개의 실험사료는 35%의 조단백질과 7%의 조지방이 되도록 제조하였다(Table 1). IMP의 첨가효과를 조사하기 위해 대조사료에 alanine 양을 감소시켜 (주)CJ 제일제당에서 제공받은 제품을 농도별로 첨가하였다(0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%). 실험에 사용된 제품은 46% 이상의 IMP와 그외 다른 NT를 함유하였다. 실험사료 제조는 파쇄기로 모든 사료원을 분말형태로 일정하게 만든 후, 각 사료원을 사료조성표에 따라 정확히 무게를 측정하고 혼합하였다. 혼합 후 사료원 총량의 30%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기(NVM-14-2P, Gyeong-gido, Korea)로 혼합하였다. 혼합물은 소형초파기(SMC-12, Busan, Korea)를 이용하여 직경 2-3 mm 크기로 압출 성형하였다. 제작된 실험사료는 선풍기로 2일간 자연건조시킨 후, 시브(sieve)를 이용하여 적당한 크기로 준비하였으며 사료공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관한 후 실험에 사용하였다.

#### 실험어 및 사육관리

틸라피아는 전라북도 군산에 위치한 종묘장에서 구입하여 제주대학교 해양과학대학 어류사육실로 운송하였다. 2주간의 예비사육 후, 틸라피아(초기 평균 무게: 7.4±0.04 g)는 총 12개의 30 L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 40마리씩 무작위로 배치하였다. 사료공급은 순환여과시스템에서 실험구당 3반복구를 두었으며, 환수율은 일간 전체 수량의 50%로 하였다. 용존산소 유지를 위하여 에어스톤을 설치하였고, 사육수온은 전기히터를 이용하여 28-29℃ 범위로 유지하였다. 사료공급은 1일 6회(08:30, 10:30, 12:30, 14:30, 16:30, 18:30)에 걸쳐 13주 동안 반복공급을 하였다.

#### 일반성분분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125℃, 3 h), 조회분은 직접회화법(550

Table 1. Formulation and proximate composition of experimental diets for juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* (% DM)

Ingredients	Experimental diets			
	Con	0.05%	0.1%	0.2%
Fish meal	6.00	6.00	6.00	6.00
Soybean meal	33.80	33.80	33.80	33.80
Corn gluten meal	10.00	10.00	10.00	10.00
Wheat flour	42.00	42.00	42.00	42.00
Soybean oil	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture <sup>1</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin mixture <sup>2</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Alanine	0.20	0.15	0.10	0.00
CMC	0.50	0.50	0.50	0.50
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50
C-IMP	0.00	0.05	0.10	0.20
Proximate composition (%)				
Moisture	19.2	20.1	19.4	18.4
Crude protein	36.0	34.9	35.9	35.4
Crude lipid	7.3	7.2	8.3	8.3
Ash	4.2	4.1	4.2	4.2

<sup>1</sup>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 80.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl<sub>2</sub>, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.15; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.01; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.0; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1.0.

<sup>2</sup>L-ascorbic acid, 121.2; DL-α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003

℃, 12h), 조단백질은 자동조단백질 분석기(Kejltec system 2300, Sweden)로 분석하였고, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 Soxhelt 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)로 분석하였다.

#### 어체측정 및 혈액샘플

실험종료 후 실험어의 최종무게, 마리수와 사료공급량을 측정하여 사료전환효율(feed conversion ratio), 단백질이용효율(protein efficiency ratio) 및 생존율을 계산하였다. 사료유인성 실험은(사료공급 9주 후) 동일한 환경조건에서 3분동안 실험사료를 반복공급하여 실험어가 섭취한 사료의 양을 측정하였다. 3번의 반복실험을 통하여 10 g의 실험어가 먹은 양으로 계산하였다.

최종무게 측정 후, 각 수조당 6마리의 실험어를 무작위로 선

별하여 2-phenoxyethanol 용액(100 ppm)으로 마취시킨 후 6 마리 중 3마리는 헤파린이 처리된 주사기로 꼬리 미병부에서 채혈하였다. 채혈된 전혈은 hematocrit, hemoglobin 및 대식세포활성(nitroblue-tetrazolium) 분석에 이용되었고 분석이 끝난 후, 원심분리기로(5000×g) 혈장을 분리하여 혈장성분 분석을 실시하였다. 남은 3마리의 혈액은 헤파린이 처리되지 않은 주사기로 채혈하였고 채혈된 전혈은 상온에서 60분간 방치시킨 후 원심분리기로(5000×g) 혈청을 분리하여 면역분석을 실시하였다.

### 혈액 및 면역분석

Hematocrit은 혈액진단원심분리기(Micro hematocrit VS-12000, Korea)에서 10분간 원심분리하여 값을 측정하였고, hemoglobin, total protein, glucose 및 total cholesterol은 각각의 시판 kit시약과 반응시킨 후 혈액생화학분석기(Express plus system, USA)로 분석하였다.

혈액 내 대식세포 활성은 Kumari and Sahoo (2005)의 분석 방법을 토대로 Nitro-blue tetrazolium (NBT)분석방법을 통해 호중구의 oxidative radical 생성량을 측정하였다. 전혈과 NBT solution (0.2%)을 각각 50 µL씩 유리튜브에 옮긴 후, formazon 생성을 감소시키기 위해 1 mL의 dimethyl formamide를 첨가하여 2000×g 에서 5분동안 원심분리하였다. 이때 형성된 상층액을 수집하여 spectrophotometer (Genesys 10UA, USA)로 540 nm에서 NBT의 감소 범위를 측정하였다. Blank는 dimethyl formamide를 사용하였다.

혈청 내 lysozyme 분석은 Sankaran and Shanto (1972)의 방법으로 분석하였다. Sodium citrate buffer (0.02 M, pH 5.52)에 동결건조된 *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA)를 첨가하여 0.2 mg/mL 농도의 현탁액을 제조한 후, 현탁액과 혈청을 10:1의 비율로 혼합하여 24°C에서 한시간 반응시킨 후, 450 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. Hen egg white lysozyme (HEWL; sigma, USA)을 이용하여 standard curve를 구하고 ug/mL로 표시하였다.

혈청 내 myeloperoxidase (MPO)활성은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법을 기초로 분석하였다. 먼저 HBSS (Hanks balanced salt solution)용액을 96-well plates에 80 µL씩 분주한 다음 혈청 20 µL을 넣고 20 mM TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine hydrochloride)용액과 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>용액을 넣었다. 2분간 반응시킨 후 4 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>용액을 35 µL 첨가하여 microplate reader (Thermo, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 내 superoxide dismutase (SOD)활성은 SOD assay kit (Sigma, 19160)로 분석하였다.

### 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized

Table 2. Growth performance of tilapia *Oreochromis niloticus* (initial body weight 7.4±0.04 g) fed four experimental diets containing different levels of IMP for 13 weeks

	FBW <sup>1</sup>	FCR <sup>2</sup>	PER <sup>3</sup>	IFI <sup>4</sup>	Survival (%)
Con	35.9±2.1 <sup>a</sup>	1.24±0.10 <sup>ab</sup>	2.19±0.15	0.26±0.03	73.3±17.3
0.05%	37.7±2.8 <sup>ab</sup>	1.27±0.07 <sup>b</sup>	2.19±0.05	0.28±0.03	93.3±3.3
0.10%	40.1±2.0 <sup>b</sup>	1.15±0.05 <sup>a</sup>	2.37±0.06	0.30±0.04	92.2±3.8
0.20%	39.2±1.1 <sup>ab</sup>	1.19±0.03 <sup>ab</sup>	2.32±0.12	0.27±0.04	80.0±16.7

Values are mean of triplicate groups and presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>Final body weight (g)

<sup>2</sup>Feed conversion ratio = dry feed fed/wet weight gain

<sup>3</sup>Protein efficiency ratio = wet weight gain/total protein given

<sup>4</sup>Instantaneous feed intake (g) = average feed intake/total weight × 10

design)으로 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0)프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계분석하였다. 데이터 값의 유의차는 LSD (least significant difference)로 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석하였다.

## 결과 및 고찰

13주간의 성장실험 결과는 Table 2에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었지만 대조구가 73%로 가장 낮았고 IMP가 첨가된 그룹은 80-93%의 높은 수치를 보였다. 사망개체의 외형적인 형태를 보면 눈과 지느러미 부분이 다른 개체로부터 공격 당한 것으로 보여 공식현상에 의한 결과라 판단된다. 따라서, 1일 4회의 사료공급을 2주째부터는 1일 6회로 늘려 공식에 의한 폐사량을 감소시켰다. 최종무게와 사료효율은 0.1% IMP 그룹이 대조구에 비해 유의적으로 높았으나 고농도인 0.2% IMP 그룹은 대조구와 유의적인 차이가 없었다. 무지개송어를 대상으로 사료 내 상업적 NT 제품인 Optimun (Chemofarma, Augst, Switzerland)을 0%, 0.05%, 0.1%, 0.15%, 0.2%씩 첨가하여 8주간 공급한 경우 0.2% 첨가가 다른 그룹에 비해 유의적으로 높은 성장률과 사료전환 효율을 보여 이번 연구와 유사한 결과를 보였다(Tahmasebi-Kohyani et al., 2011). 반면, Cheng et al. (2011)은 홍민어를 대상으로 상업적 NT 제품(Ascogen P, Canadian Bio-Systems Inc.)을 0.5%와 1.0% 첨가하여 6주간 실험사료를 공급하였을 때, 모든 그룹에서 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 이러한 차이는 실험에 이용된 NT 제품의 활성과 실험사료의 영양소 조성에 따라 달라진 것으로 판단된다. 어분에는 많은 양의 NT (2 g NT/kg)를 포함하고 있다(Carver and Walker, 1995; Mateo and Stein, 2004). Tahmasebi-Kohyani et al. (2011)은



Table 3. Hematological parameters of tilapia fed *Oreochromis niloticus* four experimental diets containing different levels of IMP for 13 weeks

	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dL)	Total protein (g/dL)	Glucose (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)
Con	39.3±3.8	10.2±3.3	3.88±0.12 <sup>a</sup>	71±5	219±51
0.05%	39.8±1.2	8.2±0.2	4.75±0.66 <sup>b</sup>	104±21	225±60
0.10%	40.4±1.5	8.2±0.2	3.93±0.46 <sup>ab</sup>	82±21	172±25
0.20%	38.9±1.7	9.5±0.9	3.89±0.38 <sup>a</sup>	78±20	230±53

Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

대조구에 약 43%의 어분을 사용하였지만, Cheng et al. (2011)은 약 58%의 어분을 사용하여 실험사료를 제작하였다. 후자의 경우, 대조사료에 이용된 어분으로부터 충분한 NT가 공급되어 어류의 요구량을 만족시켰을 것으로 판단된다. 영양소가 충족된 사료에 외부 첨가제를 사용하게 되면 그 효능이 미비하거나 효능을 발휘하지 못할 수 있다(Lee and Lim, 2000). Adamek et al. (1996)은 무지개송어를 대상으로 적정량(0.06%-0.25%)의 NT가 첨가된 사료를 공급하였을 때 성장률이 증가하였지만, 고농도 그룹(5%)에서는 성장이 감소하였다고 보고하였다. 따라서, 우수성이 보고된 물질이라도 적정량 이상으로 사용하였을 때에는 오히려 역효과가 나타날 수 있을 것으로 판단된다(Shiau and Yu, 1999). 본 연구에서는 대조사료에 포함된 사료원으로부터 NT 함량을 최소화하였고, 최근 틸라피아에서의 저어분사료(low fish meal feeds)에 근접하기 위해 어분함량을 6%로 조절하여 실험사료를 제작하였다. 어분은 단백질 함량이 높고 사료섭이에 대한 기호성을 향상시키지만, 증가하는 수요에 비해 불안정한 공급으로 가격이 상승하고 있다(Hardy and Tacon, 2002; Tacon and Metian, 2009). 따라서 사료 내 어분함량을 줄임과 동시에 실험사료의 섭이율을 유지하기 위해 최소한의 어분을 첨가하였다. 사료유인성 실험결과, 모든 그룹에서 유의적인 차이는 없었지만 성장률과 동일하게 0.1% IMP가 첨가된 그룹이 높은 경향을 보였다(Table 2). 이는 사료 내 IMP의 첨가에 의해 사료섭이율이 증진되어 틸라피아의 성장률을 향상시킨 것으로 사료된다. 성장결과를 바탕으로 0.1% IMP의 첨가는 치어기 틸라피아 사료에 적정 첨가함량이라고 판단된다.

혈액학적 분석결과는 Table 3에 나타내었다. Hematocrit, hemoglobin, glucose, cholesterol 값은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다. Total protein 함량은 0.05% IMP그룹이 대조구와 0.2% IMP그룹에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. Total protein은 면역반응을 유지하기 위한 필수 구성요소이다(Kumar et al., 2005; Jha et al., 2007). 따라서 증가된 total protein은 어류의 비특이적 면역반응에 연관이 있을 것으로 사

Table 4. Nitro blue tetrazolium (NBT), myeloperoxidase (MPO), lysozyme and superoxide dismutase (SOD) activities of tilapia *Oreochromis niloticus* fed four experimental diets containing different levels of IMP for 13 weeks

	NBT (absorbance)	MPO (absorbance)	Lysozyme (U/ml)	SOD (% inhibition)
Con	0.99±0.18	2.12±0.22 <sup>a</sup>	17.6±6.49	33.3±3.2
0.05%	1.03±0.23	2.21±0.06 <sup>ab</sup>	18.9±3.70	39.2±11.9
0.10%	0.99±0.14	2.50±0.04 <sup>b</sup>	26.0±8.30	39.1±5.6
0.20%	1.13±0.17	2.00±0.27 <sup>a</sup>	26.4±5.87	38.8±4.1

Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

료되며 본 실험에서도 증가된 total protein (0.05-0.10%)은 어류의 비특이적 면역반응에 관여한 것으로 판단된다.

실험사료 급이에 따른 틸라피아의 비특이적 면역반응 결과는 Table 4에 나타내었다. MPO 활성에서는 0.1% IMP그룹이 대조구와 0.2% IMP그룹에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였다. 대식세포, lysozyme 및 SOD 활성에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다. Sakai et al. (2001)는 잉어사료에 상업적 NT제품을 첨가하였을 때 혈청에서 lysozyme 활성이 증가하였고, Tahmasebi-Kohyani et al. (2011)는 무지개송어에서 보체, lysozyme 및 immunoglobulin M 활성이 증가하였다고 보고하였다. 반면, NT 첨가농도와 상관없이 어류의 비특이적 면역반응에 영향을 미치지 않은 연구결과들도 보고되었다. 차넬메기(Welker et al., 2011)와 홍민어(Cheng et al., 2011)를 대상으로 NT 제품을 공급하였을 때, 대식세포활성과 lysozyme 활성에서 유의적인 차이가 없었다. 어떠한 기작에 의해 비특이적 면역반응이 증가되었는지 정확하게 밝혀지지 않았지만, 이전의 연구결과를 통해 몇 가지 가설이 제시되었다. Low et al. (2003)은 turbot (*Scophthalmus maximus*) 사료에 NT를 첨가하여 15주간 공급하였을 때, 신장에서 immunoglobulin M과 interleukin 1 $\beta$  유전자 발현량이 대조구에 비해 유의적으로 증가하였다고 보고하여 NT가 면역관련 유전자의 발현에 영향을 미친다고 추측하였다.

현재까지 보고된 대부분의 NT 첨가실험은 상업제품을 이용하여 진행되었다. 시중에 판매되고 있는 NT제품은 미네랄, 아미노산, nucleoside, polysaccharides와 같은 물질을 함유하였다. 따라서, 상업제품을 이용한 연구에서는 NT 농도와 함량에 대한 정확한 정보를 제시하기 어렵고, 농도에 따라 어류가 이용할 수 있는 활성이 달라질 것으로 판단된다. 본 실험에 사용된 제품은 46%의 IMP를 포함하고 있어 1 kg 실험사료에는 0 (대조구), 0.23 (0.05%), 0.46 (0.1%), 0.92 g (0.2%)의 IMP가 각각 함유되었다. 이번 연구결과를 종합해 볼 때, 치어기 틸라피아에서 저어분 사료를 사용할 경우에는 사료 1 kg 당 약 0.5

g의 IMP 첨가가 적정할 것으로 판단된다. 또한, 성장과 사료 효율 및 비특이적 면역력을 위한 적정 첨가함량은 사료의 어분 함량 및 영양소 조성과 더불어 어종에 따라 달라질 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 CJ 제일제당주식회사(CJ Global 기술연구원)의 연구비 지원과 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2011-0004681)

## 참 고 문 헌

- Adamek Z, Hamackova J, Kouril J, Vachta R and Stibranyiova I. 1996. Effect of Ascogen probiotics supplementation on farming success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wels (*Silurus glais*) under conditions of intensive culture. *Krmiva (Zagreb)* 38, 11-20.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, U.S.A, 1298.
- Carver J, Cox W and Barness L. 1990. Dietary nucleotide effects upon murine natural killer cell activity and macrophage activation. *J Parenter Enteral Nutr* 14, 18-22.
- Carver JD and Walker WA. 1995. The role of nucleotides in human nutrition. *J Nutr Biochem* 6, 58-72.
- Cheng Z, Buentello A and Gatlin III DM. 2011. Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum *Sciaenops ocellatus*. *Fish Shellfish Immunol* 30, 143-147.
- Cosgrove M. 1998. Nucleotides. *Nutrition* 14, 748-751.
- El-Sayed AFM. 2006. Tilapia Culture. CABI Publishing, CABI International, Wallingford, Oxfordshire, UK.
- Folch J, Lee M and Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509.
- Gil A. 2002. Modulation of the immune responses mediated by dietary nucleotides. *Eur Clin Nutr* 56, 1-4.
- Grimble GK and Westwood OMR. 2000. Nucleotides. In: German JB, Keen CL. (Eds.), *Nutrition and Immunology: Principles and Practice*. Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA, 135-144.
- Hardy RW and Tacon AGJ. 2002. Fish meal: Historical uses, production trends, and future outlook for sustainable supplies. In: Stickney RR, MaVey JM. (Eds.), *Responsible Marine Aquaculture*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 311-325.
- Jha AK, Pal AK, Sahu NP, Kumar S and Mukherjee SC. 2007. Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA,  $\omega$ -3 fatty acid and  $\beta$ -carotene in *Catla catla* juveniles. *Fish Shellfish Immunol* 23, 917-927.
- Kim SS and Lee KJ. 2008. Effects of dietary kelp (*Ecklonia cava*) on growth and innate immunity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquac Res* 39, 1687-1690.
- Kim SS, Galza GB, Pham MA, Jang JW, Oh DH, Yeo IK and Lee KJ. 2009. Effects of dietary supplementation of a Meju, fermented soybean meal, and *Aspergillus oryzae* for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian Aust J Anim Sci* 22, 849-856.
- Kim SS, Song JW, Lim SJ, Jeong JB, Jeon YJ, Yeo IK and Lee KJ. 2010. Effects of dietary supplementation of fermented garlic powder on immune responses, blood components, and disease resistance against principal fish disease of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in low temperature season. *J Anim Sci & Technol* 52, 337-346.
- Kiyohara S, Hidaka I and Tamura T. 1975. Gustatory response in the puffer-II. Single fiber analysis. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 41, 383-391.
- Kubitza F, Lovshin LL and Lovell RT. 1997. Identification of feed enhancers for juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture* 148, 191-200.
- Kumar S, Sahu NP, Pal AK, Choudhury D, Yengkokpam S and Mukherjee SC. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish Shellfish Immunol* 19, 331-344.
- Kumari J and Sahoo PK. 2005. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus*. *Fish Shellfish Immunol* 19, 307-316.
- Lee SM and Lim TJ. 2000. Effects of herb as an additive in formulated diet on growth and body composition of larval ayu (*Plecoglossus altivelis*). *J East Coastal Res* 11, 35-42.
- Li P and Gatlin III DM. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture* 251, 141-152.
- Li P, Gatlin III DM and Neill WH. 2007. Dietary supplementation of a purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *J World Aquacult Soc* 38, 281-286.
- Lin YH, Wang H and Shiao SY. 2009. Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquacult Nutr* 15, 117-122.
- Low C, Wadsworth S, Burrells C and Secombes CJ. 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. *Aquaculture* 221, 23-40.
- Mackie AM. 1973. The chemical basis of food detection in the lobster *Homarus gammarus*. *Mar Biol* 21, 103-108.
- Mateo CD, Stein HH. 2004. Nucleotide deficiencies in starter diets for weanling pigs. Nutritional biotechnology in the feed industry. In: *Proceedings of Alltech's 20th annual symposium*, Lexington, KY, U.S.A, 1-55.

- Rudolph FB. 1994. The biochemistry and physiology of nucleotides. J Nutr 124, 124-127.
- Sakai M, Taniguchi K, Mamoto K, Ogawa H and Tabata M. 2001. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. J Fish Dis 24, 433-438.
- Sankaran K and Shanto G. 1972. On the variation in catalytic activity of lysozyme in fishes. Indian J Biochem Biophys 91, 162-165.
- Shiau SY and Yu YP. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture 179, 439-446.
- Song JW, Jang JW, Kim SS, Oh DH, Cha JH and Lee KJ. 2011. Effect of dietary supplementation with alga (*Hizikia fusiformis* and *Ecklonia cava*) on the non-specific immune responses of parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. Kor J Fish Aquat Sci 44, 332-338.
- Tacon AGF and Metian M. 2009. Fishing for aquaculture: non-food use of small pelagic forage fish-a global perspective. Rev Fish Sci 17, 305-317.
- Tahmasebi-Kohyani A, Keyvanshokoo S, Nematollahi A, Mahmoudi N and Pasha-Zanoosi H. 2011. Dietary administration of nucleotides to enhance growth, humoral immune responses, and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Shellfish Immunol 30, 189-193.
- Welker TL, Lim C, Yildirim-Aksoy M and Klesius PH. 2011. Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquac Res 42, 1878-1889.