사료 내 미역(*Undaria pinnatifida*) 당단백질의 첨가가 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 치어의 성장 및 면역 증강에 미치는 영향

안철민 · 김강웅 · 김경덕 · 김영민¹ · 김인혜¹ · 박수진¹ · 최윤희² · 남택정^{1*}

국립수산물연구원 사료연구센터, ¹부경대학교 식품영양학과, ²부경대학교 수산과학연구소

Effect of Supplementing the Diet of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* with Sea Mustard *Undaria pinnatifida* Glycoprotein on Growth and the Immune System

Cheul-Min An, Kang-Woong Kim, Kyoung-Duck Kim, Young-Min Kim¹,
In-Hye Kim¹, Su-Jin Park¹, 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

²Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 619-911, Korea

This study evaluated the effects of adding sea mustard *Undaria pinnatifida* glycoprotein to the diet of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* on its growth, and levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding proteins (IGFBPs), and interleukins. Three experimental diets (U0, U0.5, and U1.0) were formulated that contained different amounts of an extract of *U. pinnatifida* (0, 0.5, and 1.0%, respectively). Experimental groups were established in triplicate (30 fish/group) and fed for 12 weeks. The experimental group fed 1.0% added *U. pinnatifida* glycoprotein had the greatest rate of weight gain, which differed significantly from the other experimental groups. SDS-PAGE of the plasma IGF-I and muscle protein showed that the experimental groups taking *U. pinnatifida* glycoprotein had significantly more IGF-I and a ca. 200 kDa protein, as compared to the control group. In addition, the amount of IGFBP-3 at ca. 43 kDa increased in the group given the *U. pinnatifida* extract, as compared to the control group. The interleukin-2, -4, -6, and -12 levels paralleled the level of growth factor in the groups given the *U. pinnatifida* extract. In conclusion, supplementing the diet of olive flounder with *U. pinnatifida* glycoprotein improved its growth and immunity.

Key words: Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, *Undaria pinnatifida*, Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding proteins (IGFBPs)

서론

최근 어류의 성장을 증진시키거나 육질 개선을 위해 배합사료에 여러가지 기능성 물질을 첨가하여 어류의 성장, 사료효율, 면역능력 및 체조성을 연구하여 배합사료의 품질을 향상시키고자 하는 연구가 이루어지고 있다(Kim et al., 2011).

해조류는 다량의 단백질, 비타민, 무기질과 다당류를 가지고 있어 식품으로서 뿐만 아니라 항비만(Maeda et al., 2005), 중앙성장 억제(Hirayasu et al., 2005), 항산화 활성(Yuan and Walsh, 2006), 간독성 해독작용(Hwang et al., 2008) 등 항

암, 항염증, 면역증강 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다. 최근에는 이와 같이 다양한 생리활성물질을 함유하고 있는 해조류를 양어 사료에 적용하여 첨가제로서의 가능성을 알아보기 위해, 넙치(Kim et al., 2009), 무지개송어(Soler-Vila et al., 2009), 돌돔(Song et al., 2011) 등을 대상으로 연구한 바 있으며, 그 중 감태(*Eclonia cava*)와 톳(*Hizikia fusiformis*)이 높은 항산화 활성, 면역증강, 질병 저항성을 가지는 것으로 밝혀졌다(Kim et al., 2009; Song et al., 2011). 그러나, 이들 대부분의 연구에서는 해조류 분말을 그대로 사료에 첨가하여 성장과 면역력을 연구하였으며, 해조류가 가진 단백질이나 다당

Article history;

Received 26 July 2012; Revised 8 October 2012; Accepted 18 October 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(5) 423-429, October 2012

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0423>

pISSN:0374-8111

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

류와 같은 특정 성분을 섭취하였을 때 어체 내 성장 및 면역과 관련된 내인성 인자에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있으며, 일부 포유류에서 방사무늬김(*Porphyra yezoensis*)의 당단백질 추출물이 간독성의 해독작용을 하는 것으로 밝혀진 바 있다(Hwang et al., 2008).

성장과 관련되어 있는 growth hormone (GH) - insulin-like growth factor (IGF) axis는 포유류와 경골어류에서 체성장과 영양대사 조절에 연관되어 있으며(Moriyama et al., 2000; Peter and Marchant, 1995), IGFs의 활성은 GH와 IGF농도를 증가 혹은 억제시키는 다른 내분비 조절자 및 IGF binding proteins (IGFBPs)의 존재여부에 따라 조절된다(Peterson and Waldbieser, 2009). Duan and Xu (2005)는 세포수준에서 IGFs가 세포분열, 분화, 이동, 성장, 대사, 수축 등을 자극하는 것으로 보고하였으며, 특히 IGF-I은 어류의 성장을 조절하는 중요한 지표로서 작용하는 것으로 알려져 있으며(Vera Cruz et al., 2006), 조피볼락(Nam et al., 1998), 채널메기(Peterson and Small, 2005), 나일틸라피아(Vera Cruz et al., 2006)에서 IGF와 어류 성장과의 관계가 보고된 바 있다. 또한 일부 어류에서는 간, 골격근, 지방조직 등에서 insulin과 IGF-I-specific receptors가 발견되어 IGF 시그널 경로에 관한 연구가 보고되고 있다(Gutiérrez et al., 1991; Planas et al., 2000).

따라서, 본 연구에서는 사료 내 미역 추출물인 당단백질의 첨가가 넙치 치어의 성장 및 면역력에 미치는 효과를 알아보기 위해 어류의 성장지표로 알려진 IGF-I의 활성과 그와 결합하는 IGFBPs, 면역단백질 인자로 알려진 interleukin 등의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

시료 추출물

실험에 사용된 미역(*Undaria pinnatifida*)은 부산광역시 기장산이며 깨끗하게 씻은 다음 동결건조하였다. 미역 분말 600 g을 대용량 추출용기에 넣고 15 L의 증류수를 첨가하여 실온에서 3시간 동안 교반하면서 추출하였다. 추출액을 5,000 rpm (4℃)에서 20분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 3배 부피의 에탄올을 첨가하고 침전된 당을 제거하여 감압 농축하였다. 에탄올과 수분을 제거한 시료에 다시 증류수를 첨가하여 용해시킨 다음 동결건조하여 실험에 사용하였다.

실험사료

실험사료의 조성 및 일반 성분분석은 Table 1에 나타내었다. 미역 추출물의 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 0.5%, 1%가 되도록 첨가하여 실험사료(U0, U0.5, U1.0)를 제조하였다. 실험사료 제조는 우선 모든 사료원료를 파쇄기를 이용하여 분말형태로 일정하게 만들고, 각 사료원료를 사료조성표에 따라 무게를 재고 혼합한 다음 사료원 총량의 30-40%에 해당하는 증류수를

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the experimental diets

	Diets		
	U0	U0.5	U1.0
Ingredient (%) ¹			
Sea mustard extract	0	0.5	1.0
Fishmeal	65.6	65.6	65.6
Wheat flour	19.9	19.9	19.9
Soybean meal	3.0	3.0	3.0
Squid liver oil	5.5	5.5	5.5
Vitamin & Mineral premix ²	2.0	2.0	2.0
CMC	3.0	3.0	3.0
Cellulose	1.0	0.5	0
Proximate composition (dry matter basis, %)			
Crude protein	51.8	51.7	51.7
Crude lipid	12.0	12.1	12.0
Crude ash	10.5	10.6	10.6

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.

첨가하여 사료혼합기(NVM-14-2P, Korea)로 혼합 및 반죽한 다음 소형초파기(SMC-12, Korea)를 사용하여 직경 3 mm 크기로 성형하였다. 성형된 실험사료는 -70℃ 동결냉동 건조기에서 건조하여, 시브(Sieve)로 적당한 크기의 사료로 가공하였으며, 사료 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

실험어 및 사육관리

사육실험은 평균 체중 55.8±0.6 g의 넙치를 1톤 PP 원형수조 9개에 30 마리씩 무작위로 선택하여 수용하였다. 3 반복 실험구를 두었으며, 사육수는 여과수를 사용하여 3-5 L/min의 유수량으로 조절하였고, 전 실험기간 동안 평균 수온 22.1±3.7℃ (14.6-26.7℃)로 자연수온에 의존하였다. 실험사료는 1일 2회(09:00, 17:00) 만복 공급하였으며, 12주간 사육 실험을 실시하였다.

어체측정 및 일반성분 분석

어체 측정은 4주 간격으로 실시하였으며, 성장률을 측정하기 위하여 24시간 절식시킨 후 MS-222 (100 ppm)로 마취시켜 전체무게를 측정하였다. 실험 종료후, 증중율(weight gain,

WG), 사료효율(feed efficiency, FE), 일간성장률(specific growth rate, SGR) 및 생존율(survival rate)을 조사하였다. 일반성분은 실험사료와 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체를 사용하였으며, 수분은 상압가열건조법(105°C, 4시간), 조단백질은 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, Soxtec system 1046 (Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 또한 혈액내 IGF-I과 IGF-BPs의 분석을 위해 어체를 마취하여 정맥으로부터 채혈하여 원심분리한 뒤 분리한 혈청을 -75°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

근육조직의 SDS-PAGE 전기영동 분석

근육조직내 단백질 변화를 분석하기 위해, 근육조직을 PBS 용액으로 균질화시킨 후 10,000 rpm (4°C)에서 20분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 BCA protein assay kit (Thermo scientific, Rockford, IL, USA)로 단백질량을 측정하였다. 이후 각 실험군을 동량의 단백질 농도로 하여 12% SDS-PAGE로 전기영동한 다음 Coomassie brilliant blue로 염색하였다.

혈중 IGF-1 activity 분석

혈중 IGF-I activity는 Human IGF-I EIA kit (K032112, Komabiotech, Korea)를 사용하여 측정하였다. 즉, Antigen-affinity purified Goat anti-Human IGF-I 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 450nm에서 흡광도를 측정하여 대조군을 백분율로 환산하였다.

혈중 IGF binding proteins 분석

혈중 IGF binding proteins 측정을 위해서 혈액 1 µL를 1x sample buffer 39 µL에 희석하여 동량의 혈액 샘플을 12% acrylamide gel에 전기영동 한 후 PVDF membrane (Millipore, Billerica, MA, USA)으로 옮겼다. Membrane은 실온에서 1% BSA/TBS-T로 blocking 시킨 후, 1차 항체(anti-barramundi IGF-1)를 1:5,000, 2차 항체(HRP-conjugated goat anti-rabbit, Santacruz, USA)를 1:10,000으로 희석해 반응시킨 후 Super Signal West Pico Stable Peroxide Solution과 Super Signal West Pico Luminol/ Enhancer solution (Thermo scientific, Rockford, IL, USA)을 사용해 KODAK

medical X-ray film (Rochester, NY, USA)에 감광시켰다.

간조직의 interleukin 분석

면역관련 인자인 interleukin protein은 Abfrontier (Seoul, Korea)의 IL-2 (LF-EK50125), IL-4 (LF-EK50141), IL-6 (LF-EK50157), IL-12 ELISA (LF-EK50181) kit를 사용하여 분석하였다. 넙치 사육이 끝난 뒤, 급속동결하여 보관한 간조직을 0.1 g씩 취하여 분쇄한 후 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 상층액을 BCA assay kit (Thermo scientific, Rockford, IL, USA)로 정량하여 동량을 실험에 사용하였다. 즉, 각각의 human IL이 precoating된 96well plate에 standard와 sample을 100 µL씩 분주한 후 37°C에서 90분 반응시켰다. 세척한 후 각각의 biotinylated anti-human IL antibody를 100 µL 분주하고 37°C에서 60분 반응시켰다. PBS로 세척하고 ABC working solution을 100 µL 분주한 후 37°C에서 30분 반응시켰다. 이어서 다시 PBS로 세척한 다음 TMB color developing agent를 90 µL 분주한 후에 37°C에서 색 변화를 확인한 후에 TMB stop solution을 10 µL 분주하여 노란색으로 변하는 것을 확인 한 후 30분 이내에 micro plate reader (Bio-Rad)로 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성은 대조군을 100%로 환산하여 분석하였다.

통계처리

분석결과는 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하여 반복측정에 의한 One-way ANOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple range test ($P < 0.05$)로 평균간의 유의성 검증을 실시하였다.

결과 및 고찰

12주간 사육실험 결과, 증체율과 일간성장률은 미역 추출물 1.0%를 첨가한 실험구가 대조구에 비해 유의하게 높은 성장을 보였으며($P < 0.05$), 0.5% 첨가한 실험구에 비해서는 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$). 사료효율은 미역 추출물을 첨가한 실험구(U0.5, U1.0)에서 대조구와 비교하여 유의하게 높은 값을 보였다(Table 2). 이와 같이 미역 추출물의 우수한 성적에도 불구하고, 일부 연구자들은 사료내 첨가되는 해조류의 종류와 농도에 따라 어체의 성장률이 감소하거나 증가하며(Kim et al., 2009), 해조류 *Porphyra dioica*와 감태(*E. cava*)를 사료 내 첨가 시 무지개송어와 넙치의 성장이 감소하거나(Soler-Vila et al., 2009; Kim and Lee, 2008), 연어과 어류에서 사료내 고농도의 야채 첨가가 성장을 감소시킨다(Refstie et al., 2001)고 보고하였다. 본 연구에서는 미역의 당단백질을 추출하여 사료내 첨가함으로써 어류가 섭취할 때 소화·흡수를 돕는 다양한 생리활성 물질이 어류의 성장 및 사료효율에 영향을 미쳤을 것

으로 사료된다. 한편, 전어체의 수분, 조지방, 회분 함량은 유의한 차이는 보이지 않았으나, 조단백질은 미역 추출물 1.0%를 첨가한 실험구가 가장 높은 값을 보였는데, 이는 미역 추출물이 어체 내 성장을 가속화하여 근육 내 단백질 축적에 영향을 미친 것으로 추측된다(Table 2).

넙치 근육조직의 단백질을 전기영동한 결과 200-250 kDa 부근에서 미역을 섭취한 군에서 특이적인 단백질의 발현이 관찰되었으며, 미역 추출물의 농도가 증가할수록 단백질의 발현량이 증가하였다(Fig. 1). 이는 미역 추출물 중 당단백질이 넙치의 생리활성에 영향을 미칠 것으로 추측되며, myosin의 heavy chain이 보임으로써 단백질의 분석 지표로 사용할 수 있을 것으로 보여진다(Table 3).

Insulin-like growth factor type I (IGF-I)은 성장촉진과 관련된 생화학적인 지표로서 70개의 아미노산으로 구성되어 있는 single chain polypeptide로서, 증식 및 세포분화 촉진 등 다양한 역할에 직접적으로 관여하는 성장인자이다. 간에서 생성되며 혈액을 통해 전신으로 운반되어 연골세포의 증식 및 근

육조직의 형성에도 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있으며, 어류에서도 IGF-I이 성장인자로서 중요한 요소로 보고되었다(Nam et al., 1998). 본 연구에서 IGF-I 성장인자의 혈액 내 변화를 살펴본 결과, 미역 추출물 0.5%, 1.0% 첨가한 실험구가 대조구에 비해 각각 10.8%, 13.7% 증가한 것으로 나타나(Fig. 2) 성장 촉진에 관여한 것으로 사료된다.

또한 IGFs는 혈액내에서 IGFBPs와 결합하여 존재하고 있으며, 이들 결합단백질은 IGFs의 반감기를 연장시켜 주고, IGFs를 표적세포까지 운반해 주기 때문에 IGF-I 과 높은 친화력을 가지는 IGFBPs이 필요하다(Baxter, 1993; Nam et al., 1998). 본 연구결과에서도 혈액 내 IGF-I의 증가로 인하여 약 43 kDa 부근에서 IGFBP-3가 대조구와 비교하여 미역 추출물을 첨가한 실험구에서 발현량이 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 약 36 kDa 부근에서 IGFBP-1이 대조구에 비해 미역 추출물을 첨가한 실험구에서 발현량이 감소하였다(Fig. 3). 이는 혈액 내 IGF-I의 증가로 인하여 IGFBP-3가 미역 추출물을 첨가한 실험구에서 발현이 증가하고, 성장에 필요한 IGF-I 합성을 저

Table 2. Growth performance and proximate composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 12 weeks

	Diets		
	U0	U0.5	U1.0
Growth performance			
Initial weight (g/fish)	56.3±0.19	55.9±0.19	55.4±0.96
Final weight (g/fish)	203±4.45	208±2.82	213±7.65
Survival (%)	93.3±3.33 ^{ns}	94.4±1.92	95.6±1.92
Weight gain (%) ¹	263±6.68 ^a	273±4.28 ^{ab}	285±7.62 ^b
Daily growth rate (%) ²	1.71±0.02 ^a	1.75±0.02 ^{ab}	1.79±0.03 ^b
Feed efficiency (%) ³	83.6±0.67 ^a	89.3±0.74 ^b	92.9±2.65 ^b
Daily feed intake (%) ⁴	2.03±0.01 ^b	1.94±0.01 ^a	1.91±0.03 ^a
Proximate composition (%)			
Moisture	73.1±0.43 ^{ns}	73.2±0.35	72.3±1.10
Crude protein	18.7±0.39 ^a	18.3±0.23 ^a	19.1±0.33 ^b
Crude lipid	4.1±0.45 ^{ns}	3.0±0.35	3.7±0.25
Crude ash	3.5±0.19 ^{ns}	4.0±0.09	3.6±0.13

Values are means of triplicate groups, and values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

¹ Weight gain (%) : {final mean wt.(g) - initial mean wt.(g)} × 100 / initial mean wt. (g).

² Daily growth rate : (total weight gain × 100) / [(initial total weight + final total weight + dead fish wt.) / 2] × days fed].

³ Feed efficiency (%) : (total weight gain / total dry feed intake) × 100.

⁴ Daily protein intake (%) : (feed intake × 100) / [(initial total weight + final total weight + dead fish weight) / 2] × days fed.

ns No significant ($P>0.05$)

Fig. 1. SDS-PAGE profile of muscle protein in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. The extract from *Undaria pinnatifida* by SDS-PAGE and then stained for Coomassie brilliant blue. M, marker; U0, 0% of extract of *U. pinnatifida*; U0.5, 0.5% of extract of *U. pinnatifida*; U1.0, 1.0% of extract of *U. pinnatifida*.

Table 3. Analysis of the composition of muscle protein 200 kDa in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*

band	protein ID	search	matched peptide
1	2::gil9971579 Mass: 222040 Score: 80 Matches: 2(1) Sequences: 2(1) myosin heavy chain [Pennahia argentata]	NCBI	685.3. 733.4

Fig. 2. Plasma insulin-like growth factor I (IGF-I) activity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed experimental diets for 12 weeks. Data are presented as mean±SE. Values with different letters above the bars are significantly different ($P < 0.05$). U0, 0% of extract of *Undaria pinnatifida*; U0.5, 0.5% of extract of *U. pinnatifida*; U1.0, 1.0% of extract of *U. pinnatifida*.

해하는 IGFBP-1은 발현량이 감소하는 것을 확인하였다(Park, 2006).

Cytokine은 생체 내 여러 종류의 세포에서 분비하여 세포 증식, 분화, 활성화 등에 관여하는 polypeptides나 glycoprotein으로 면역 및 염증반응에 중요한 역할을 수행하며, 이러한 cy-

tokine내에는 interleukin이라는 단백질 인자가 있다. 이들 인자는 대부분 성장을 촉진하거나 세포성 면역 활성의 증강, 면역세포의 선택적 증식 촉진, macrophage 활성화, 알레르기, 항암 등에 관여하는 것으로 알려져 있다(Cha et al., 2006). Ryu et al. (2009)은 다양한 추출물의 혼합식이를 통하여 동물 실험 수준에서 면역증강과 관련된 interleukin이 발현되며, 특히 이러한 추출물 중 톳(*H. fusiformis*)과 같은 해조류를 식이로 하였을 때 면역활성이 증가한다고 보고하였다(Kim et al., 2009; Ryu et al., 2009; Song et al., 2011). 본 연구에서도 대조구에 비해 미역 추출물을 첨가한 실험구에서 IGF-I protein 발현량이 증가하는 것을 확인하였기 때문에 면역기능과 관련된 interleukin 단백질 발현량을 측정할 결과, 미역 추출물 실험구에서 대조구에 비해 interleukin 단백질 발현량이 증가하는 것을

Fig. 3. The expression of plasma IGFBP-1 and 3 protein levels in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed experimental diets for 12 weeks. Cell extracts were prepared and analyzed by western blotting using anti-barraundi IGF-I and HRP-conjugated goat anti-rabbit. U0, 0% of extract of *Undaria pinnatifida*; U0.5, 0.5% of extract of *U. pinnatifida*; U1.0, 1.0% of extract of *U. pinnatifida*.

확인할 수 있었다. 특히 interleukin-2, 4, 6, 12의 종류에 따라 발현량의 차이는 나타나지만 모두 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 4). 이에 따라 면역증강 요소인 interleukin의 증가가 IGF-I을 증가시킴으로써 결국 넙치의 성장에 영향을 미친 것으로 사료된다.

이상의 결과들은 해조류인 미역 추출물이 넙치 치어의 성장과 면역력을 증진시킬 수 있는 사료첨가제로 사용 가능한 것을 보여 주었다.

Fig. 4. Liver interlukin activity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Data are presented as mean±SE. Values with different letters above the bars are significantly different ($P<0.05$). NS, no significant; IL-2, interleukin-2; IL-4, interleukin-4; IL-6, interleukin-6; IL-12, interleukin-12. U0, 0% of extract of *Undaria pinnatifida*; U0.5, 0.5% of extract of *U. pinnatifida*; U1.0, 1.0% of extract of *U. pinnatifida*.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원(친환경 실용배합사료 개발 및 품질관리 연구, RP-2012-AQ-067) 지원에 의해 운영되었음.

참고문헌

- Baxter RC. 1993. Circulating binding proteins for the insulin-like growth factors. Trends Endocrinol Metab 4, 91-96.
- Cha BK, Chang MW, Jung YK, Kim KH. 2006. Effects of *Eucalyptus* and *Geranium* on Production of IL-2 and IL-4 in Mouse Splenocytes. J Life Sci 16, 162-167.
- Duan C and Xu Q. 2005. Roles of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in regulating IGF actions. Gen Comp Endocrinol 142, 44-52.
- Gutiérrez J, Asgard T, Fabbri E and Plisetskaya EM. 1991. Insulin-receptor binding in skeletal-muscle of trout. Fish Physiol Biochem 9, 351-360.
- Hwang HJ, Kwon MJ, Kim IH, 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.
- Hirayasu H, Yoshikawa Y, Tsuzuki S and Fushiki T. 2005. Sulfated polysaccharides derived from dietary seaweeds increase the esterase activity of a lymphocyte tryptase, granzyme A. J Nutr Sci Vitaminol 51, 475-477.
- 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 SS, Jang JW, Song JW, Lim SJ, Jeong JB, Lee SM, Kim KW, Son MH and Lee KJ. 2009. Effects of dietary supplementation of alga mixtures (*Hizikia fusiformis* and *Ecklonia cava*) on innate immunity and disease resistance against *Edwardsiella tarda* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Kor J Fish Aquat Sci 42, 614-620.
- 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 Schlegel).

- Aquacult Res 39, 1687-1690.
- Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Funayama K and Miyashita K. 2005. Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. Biochem Biophys Res Commun 332, 392-397.
- Moriyama S, Ayson FG and Kawauchi H. 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish. Biotechnol Biochem 64, 1553-1562.
- Nam TJ, Lee SM and Pyeun JH. 1998. Effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on body weight and the concentration of serum IGF binding proteins in Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). J Korean Fish Soc 31, 774-778.
- Park SH. 2006. The Regulation of Insulin-Like Growth (IGF) Factors and IGF Binding Proteins by High Glucose in Mesangial Cell. J Exp Biomed Sci 10, 203-210.
- Pham MA, Lee KJ, Lee BJ, Lim SJ, Kim SS, Lee YD, Heo MS and Lee KW. 2006. Effects of dietary *Hizikia fusiformis* on growth and immune responses in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). J Anim Sci 19, 1769-1775.
- Peter RE and Marchant TA. 1995. The endocrinology of growth in carp and related species. Aquaculture 129, 299-321.
- Peterson BC and Small BC. 2005. Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. Domest Anim Endocrinol 28, 391-404.
- Peterson BC and Waldbieser GC. 2009. Effects of fasting on IGF-I, IGF-II, and IGF-binding protein mRNA concentrations in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Domest Anim Endocrinol 37, 74-83.
- Planas JV, Méndez E, Baños N, Capilla E, Navarro I and Gutiérrez J. 2000. Insulin and IGF-I receptors in trout adipose tissue are physiologically regulated by circulating hormone levels. J Exp Biol 203, 1153-1159.
- Refstie S, Storebakken T, Baeverfjord G and Roem AJ. 2001. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. Aquaculture 193, 91-106.
- Ryu HS, Kim KO, Kim HS. 2009. Effects of plant water extract *Codonopsis lanceolatae* on mouse immune cell activation ex vivo. Korean J Nutr 42, 207-212.
- 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.
- 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.
- Vera Cruz EM, Brown CL, Luckenbach JA, Picha ME, Bolivar RB and Borski RJ. 2006. Insulin-like growth factor-I cDNA cloning, gene expression and potential use as a growth rate indicator in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 251, 585-595.
- Yuan YV and Walsh NA. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. Food Chem Toxicol 44, 1144-1150.