

碩士學位論文

EM-fermented orange가 넘치,
*Paralichthys olivaceus*의
성장에 미치는 영향



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校大學院
水産生物學科

宋英保

110.413

2000年 12月

EM-fermented orange가 넙치,
*Paralichthys olivaceus*의
성장에 미치는 영향

指導教授 李 榮 敦

宋 英 保

이 論文을 理學碩士 學位論文으로 提出함

2000年 12月

宋英保의 理學碩士 論文을 認准함

審査委員長 노 심



委 員 이 제 희



委 員 이 영 돈



濟州大學校 大學院

2000年 12月

**Effect of EM-fermented orange
on growth of Olive Flounder,
*Paralichthys olivaceus***

Young-Bo Song

(Supervised by Professor Young-Don Lee)



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE**

**DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

Dec. 2000

목 차

Abstract	i
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 실험어 및 사육환경	3
2. EM-fermented orange 첨가 사료 및 성장	3
1) EM-fermented orange 제조	3
2) EM-fermented orange 성분분석	6
3) 사료공급	10
4) 성장	11
3. 소화기관	12
4. 혈액분석	13
III. 결 과	14
1. 사육환경	14
2. EM-fermented orange 첨가 사료의 성장효과	14
1) 성장 및 생존율	14
2) 사료계수, 일간성장률 및 일간섭이율	15

3) 비만도	16
3. 소화기관	26
4. 혈액분석	30
IV. 고찰	32
V. 요약	36
VI. 참고문헌	38

감사의 글



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Abstract

EM-fermented orange was made from orange, *Citrus unshiu* Marc. produced in Cheju. Effects of the EM-fermented orange on growth, number of goblet cells in the digestive tract and blood chemistry of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* were examined.

The EM-fermented orange was administrated with feed at the following concentration; control, 10.00%, 0.20%, 0.10% and 0.02% of total feed.

In growth experiment, the total length of olive flounder was the longest in the EM-fermented orange 0.20% group ($P < 0.05$). The mean weight was comparatively higher in the EM-fermented orange 0.10% and 0.20% groups than the control group ($P < 0.05$). Weight gain increased 26.24% and 29.35% in the EM-fermented orange 0.10% and 0.20% groups, respectively, compared with the control group.

Daily growth rate, feed coefficient, survival rate and condition factor were investigated, and the values were apparently elevated in the EM-fermented orange 0.10% and 0.20% groups compared with the control group.

Goblet cells were found in the intestine of digestive tract of olive flounder. The number of goblet cells was generally higher in mid intestine than in anterior intestine. In all groups treated with the EM-fermented orange, goblet cells were apparently increased compared to the control group.

In experiment of blood chemistry, levels of GOT, GPT and total cholesterol were much lower in groups treated with the EM-fermented

orange than in the control group.

When the EM-fermented orange was administrated with feed, it was supposed to contribute to the rapid and healthy growth of olive flounder. The proper concentration of administration was 0.10%~0.20% of total feed.



I. 서 론

1990년대 이후 산업화된 넙치, *Paralichthys olivaceus* 양식은 최근 들어 사료값의 상승과 각종 질병 발생(오 등, 1998) 및 환경악화 등으로 경영에 어려움을 겪고 있다. 이러한 측면에서 국내외적으로 양어의 생산성향상을 목표로, 사료의 효율을 높이기 위하여 동물의 성장 호르몬을 적정농도로 혼합 공급하거나(Bilton et al., 1982; Kawauchi et al., 1992; Steiny et al., 1984; Suzuki et al., 1988; Wagner et al., 1985; Ishioka et al., 1992; Rho et al., 1999), 사료에 보조영양제를 혼합 공급하는 등의 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kono et al., 1995). 이외에도 양식어류의 성장 향상과 질병예방을 위한 천연물질의 이용과 관련하여, 구기자, 인삼, 오미자 등의 식물성 생약제의 열수 추출물의 효과(김, 1999), 한약제의 사료첨가 효과(김 등, 1998), 게 껍질에서 추출한 키토산의 사료첨가효과(이 등, 2000) 등이 보고되고 있다.

어류에서 사료의 영양물질을 흡수하는 소화관의 형태 및 조직학적 연구로 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*(이 등, 2000), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee, 1988), 자주복, *Takifugu rubripes*(김, 1999) 등에서 소화기관의 분화·발달 등이 보고되고 있다. 그리고 어류의 소화관 점막표면에 대한 운활제로서의 물리적 작용 외에 각종 화학적 손상과 세포의 공격에 대한 장 점막을 보호하는 점액질을 분비하는 배상세포(goblet cell)의 형태, 크기, 분포상태 및 점액질 성상에 관한 연구(변과 조, 1985; 최, 1996; 조 등, 1984) 등을 찾아 볼 수 있다.

그리고 사료의 성분에 따른 장 상피의 배상세포 활성 변화에 관한 연구는 유기인제제인 농약(이, 1979; 조와 김 1987)과 피마자(*Ricinus communis*)의 씨에서 추출한 독성을 가진 lectin의 일종인 ricin을 공급했을 때, 점액질의 조직화학적 변성(조 등; 1996), 비타민 C가 배상세포의 형태 및 점액질에 미치는 피리딘계 제초제인 gramoxone의 독성 완화에 관한 연구(Jo et al., 1994)들을

찾아 볼 수 있다.

각종 유기산, 비타민, 베타카로틴, 플라보노이드 등의 기능성이 높은 영양물질을 제주에서 생산되는 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc.)은 함유하고 있다(조, 1998).

이 연구에서는 넙치의 생산성 향상을 목적으로 제주산 감귤 착즙액(Orange Juice)에 유용 발효 미생물 제재로 알려져 있는 EM(effective microorganisms, 比嘉, 1995, 1998)을 접종하여 만든 감귤발효액(EM-fermented orange, 제품명; EM-Orange Juice)을 넙치 사료에 첨가하였을 때, 감귤발효액의 넙치의 성장, 소화기관 활성 및 혈액조성에 미치는 영향을 분석·평가하여 사료첨가제로서 이용가능성을 조사하였다.



II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 사육환경

이 연구에 이용된 넙치 치어는 전장 8 cm내외의 인공종묘를 2000년 3월 10일부터 2000년 6월 28일까지 총 16주 동안 사육하였다. 실험 시작시 실험어 평균 전장은 8.94 ± 1.04 cm, 체중은 8.50 ± 2.93 g 이었다.

사육수조는 원뿔형 중앙 배수 장치를 한 FRP원형수조(지름 150 cm×90 cm) 5개를 이용하였고, 각 수조당 넙치 치어 115마리씩 수용하였다. 사육 수량은 1 톤으로 1일 15~18회 환수시켰으며, 충분한 산소 공급을 위하여 통기하였다.

실험 기간중의 수온, 용존산소(dissolved oxygen, DO), pH, 비중을 매일 측정하였으며, DO는 DO meter (DO-14P), pH는 pH meter (HM-12P), 염분은 광학염분계(S/Mill-E, ATAGO)를 사용하였다.

2. EM-fermented orange 첨가사료 및 성장

1) EM-fermented orange 제조

이 실험에 사용된 감귤은 일반적으로 시중에서 유통되는 제주산 온주 밀감 (*Citrus unshiu* Marc.)을 이용하였다. EM(effective microorganism)은 부산 소재 한국 EMRO(EM Research Organization)에서 시판되고 있는 것을 이용하였으며, EM의 주요 미생물은 Table 1과 같다. 감귤발효액(EM-fermented orange)의 제조방법은 Fig. 1과 같은 절차로 제조하였다.

Table 1. Type of microorganisms and basic species in solution of EM (effective microorganisms)¹⁾

Type of Microorganisms	Basic Species
Lactic Acid Bacteria	<i>Lactobacillus plantarum</i> (ATCC8014)
	<i>Lactobacillus casei</i> (ATCC7469)
	<i>Streptococcus lactis</i> (IFO12007)
Photosynthetic Bacteria	<i>Rhodospseudomonas palustris</i> (ATCC17001)
	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> (ATCC17023)
Yeasts	<i>Saccharomyes cerevisiae</i> (IFO0203)
Others	Local beneficial microorganisms, that exist naturally, survive in the EM mixture of pH level of under 3.5, and combine into EM in the manufacturing process to constitute EM's dynamic and diverse microbial consortium(mix culture).

1)These data were kindly gifted by Dr. Teruo Higa, professor of College of Agriculture, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan.

*These microbes are found in any ecosystem, are primarily used in the food industry and are non-toxic in humans, animals, plants, and the environment. The solution of EM is not harmful even if ingested.

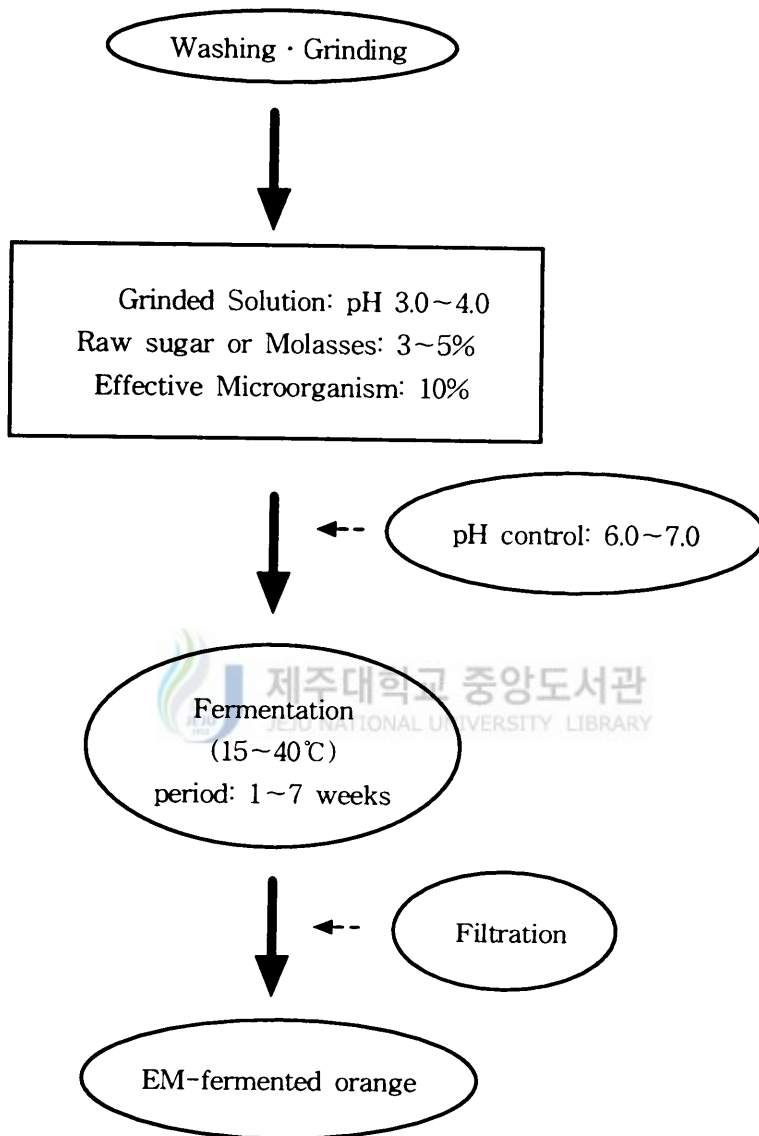


Fig. 1. Process for preparation of EM-fermented orange.

2) EM-fermented orange 성분분석

이 실험에 이용된 감귤발효액(EM-fermented orange)의 일반성분, 구성 아미노산, 유리 아미노산, 지방산, 비타민 C 그리고 무기물 및 유해물질을 분석하였다. 각각의 분석방법과 성분조성은 Table 2, 3, 4 그리고 5와 같다.

Table 2. Proximate composition of EM-fermented orange used in this study

Components	EM-fermented orange	
	% in sample	DM basis*
Moisture	95.88	-
Crude ash	0.39	9.56
Crude fiber	0.03	0.64
Crude protein	0.05	3.91
Crude fat	0.10	2.48

AOAC. 1995. Official method of analysis. 16th ed. Association of official Analytical chemists. Arlington, Virginia, USA.

* DM basis: Dry matter basis % in sample

Table 3. Amino acid composition of EM-fermented orange used in this study

Amino acid		Free amino acid		
Ingredients	% in sample	Ingredients	Concentration of Amino acid	ppm
Asp.	0.02	Phosposerine	0.62	1.86
Thr.	0.01	Asp. Acid	2.61	7.83
Ser.	0.01	Thr.	1.50	4.50
Glu.	0.02	Ser.	2.12	6.36
Pro.	0.02	Glu. Acid	5.77	17.31
Gly.	0.01	Gly.	0.88	2.64
Ala.	0.01	Ala.	3.07	9.21
Cys.	-	Val.	1.00	3.00
Val.	0.01	Met.	1.13	3.39
Met.	-	Ile.	2.21	6.63
Ile.	0.01	Leu.	3.78	11.34
Leu.	0.01	Tyr.	1.62	4.86
Tyr.	-	Phe.	2.35	7.05
Phe.	-	NH ₃	1.02	3.06
His.	0.02	Lys.	2.26	6.78
Lys.	0.01	1-M-His	0.83	2.49
NH ₃	-	Car	22.95	68.85
Total	0.15	Total	55.72	167.16

Amino acids were separated and quantified by amino acid analyzer S433 (Sykam, Germany) using ninhydrin method.

-Analysis conditions: Column size: 4 mm×150 mm, Absorbance: 570 nm and 440 nm, Reagent flow rate: 0.25 ml/min, Buffer flow rate: 0.45 ml/min, Reactor temperature: 120 °C, Reactor size: about 15 m

Table 4. Fatty acid composition of EM-fermented orange used in this study

Ingredients	% fatty acid
Myristic acid C _{14:0}	-
Palmitic acid C _{16:0}	26.32
Palmitoleic acid C _{16:1}	8.32
Magaric acid C _{17:0}	-
Stearic acid C _{18:0}	6.17
Oleic acid C _{18:1}	34.13
Elaidic acid C _{18:1, trans-9}	7.46
Linolenic acid C _{18:2}	-
Arachidic acid C _{20:0}	4.71
EPA C _{20:5}	5.70
DHA C _{22:n3}	7.27
Total	100

Gas Chromatograph (GC) - Instrument: SRI 8610C Gas Chromatograph, column: Quadrex, 30M, Bonded carbowax 0.25 mm I.D×0.25 μm film Cat. No.: 007-CW-30-0.25F, Injetor temp.: 250 °C, Detector temp.: 280°C, Flow (gas pressure): 18 psi. Helium, Splite: 1/50.

Table 5. Vitamin C and mineral composition of EM-fermented orange used in this study

Ingredients	As-is basis	DM basis (%) [*]
Ca	12.80 ppm	0.031
K	0.046 %	1.116
Fe	4.40 ppm	0.01
Na	0.014 %	0.346
Zn	7.82 ppm	0.019
Cu	5.94 ppm	0.014
Cr	- ^{**}	-
Cd	-	-
Vitamin C ^{***}	421 ppm	

AAS (Atomic asorption sepctrophotometer)

- instrument: AAS9200A (Analap, Koera)

^{*} DM basis: Dry matter basis % in sample

^{**} Not detected

^{***} HPLC (High performance liquid chromatograph)- instrument: Spectra system P 1000, Column: Grom, Col. Dim: 250×4, Part No.: Nucleosil 100 c18, 5u.

3) 사료공급

실험에 사용한 배합사료는 고압팽창사료(extruded pellet, EP: (주) 우성 사료)였으며, 사료 성분표는 Table 6과 같다. EM-fermented orange의 적정 첨가량을 조사하기 위하여 사료량의 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02%를 각각 첨가한 처리구와, EM-fermented orange를 첨가하지 않고 사료만을 공급한 것을 대조구로 하였다. EM-fermented orange의 첨가방법은 각각의 농도별로 조절된 액즙에 배합사료를 침적하여 흡착시킨 후 2~3 회/day 공급하였다.

Table 6. Proximate composition of the extrude pellet used in this study
(unit: percent)


Components	Extruded pellet
Crude protein	53.0
Crude fat	5.0
Crude fiber	4.0
Ash	17.0
Ca	1.0
P	2.7

4) 성장

실험어의 어체 측정은 4주마다 전장과 체중을 전수 측정하였으며, 측정 전날 오후 및 당일 날은 절식하였다. 체중은 전자저울(Sartorius, BP 3100S)로 0.1 g까지 측정하였으며, 전장은 자체 제작한 측정판으로 1 mm까지 측정하였다.

어체 측정 후에는 모든 실험구의 실험어를 HCl-Oxytetracline 20 ppm으로 1시간 약욕하였다.

사육 중 사망한 개체는 매일 수시로 제거하였으며, 매 4주 후 어체 측정 시 마다 생존한 개체에 대한 백분율로 생존율을 나타내었다. 총 증중량(total weight gain), 일간성장률(daily growth rate, Ricker, 1969), 일간섭이율(daily feeding rate), 사료계수(feed coefficient) 및 비만도(condition factor)를 계산하여 각 실험구간의 값을 비교하였다. 총 증중량, 일일 성장률, 일간 섭이율, 사료계수 및 비만도는 다음과 같은 공식으로 계산하였다.



total weight gain(TWG) = IW - FW

daily growth rate(DGR) = $\{(\ln FW - \ln IW)/t\} \times 100$

daily feeding rate(DFR) = $(TF \times 100)/\{(IW + FW) \times \text{day fed}/2\}$

feed coefficient(FC) = TF/WG

conditon factor(CF) = $(BW/TL^3) \times 10^3$

BW: body weight

FW: final weight

IW: inital weight

TF: total feed

TL: total length

t: rearing time

WG: weight gain

3. 소화기관

소화기관 조직상 관찰을 위해 실험종료시 각 실험구별로 5마리씩 표본 추출하여 Bouin's solution에 고정하였고, 상법인 paraffin 절편법에 의해 5 μm 두께로 절편하였다. Alcian blue periodic acid-Schiff (AB-PAS), Azan 그리고 Harry's hematoxylin과 0.5% eosin의 비교염색 후 광학 현미경으로 표본을 관찰하였다. 소화기관의 조직학적 관찰은 각각 위(stomach), 장(intestine)의 전장(anterior intestine)과 중장(mid intestine)등의 점막주름에 나타나는 배상세포(goblet cell)의 분포 및 수를 검경하였다(Fig. 2).



Fig. 2. The external feature of digestive tract of *Paralichthys olivaceus*.

a: anus, ai: section part of anterior intestine, e: esophagus, s: stomach, st: section part of stomach mi: section part of mid intestine, p: pyloric caeca, i: intestine.

4. 혈액분석

혈액은 실험 종료시 절식시킨 실험어의 미부 동맥에서 일회용 주사기로 채혈하였다. 각 실험구별로 5마리씩 혈액 채취 후 원심분리(5,000 rpm, 15 분)하여 혈장 내의 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic protein transaminase)의 활성 및 total cholesterol 양을 ABBOTT Spectrum system으로 측정하였다.

모든 자료의 통계 분석은 SAS 통계처리 소프트웨어를 이용하였으며, ANOVA-test를 실시한 후 Duncan's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였다.



Ⅲ. 결 과

1. 사육환경

실험기간 중 실험구의 환경 요인중 주간 평균 수온, 염분, DO, pH의 결과는 Fig. 3과 Fig. 4와 같다.

실험기간 중 사육 수온은 12.2~19.5℃의 범위에서 변화하였으며, 6월말에 최고에 달하였고, 평균 수온은 14.6℃이었다. 염분은 32.5~34.1‰의 범위였다.

사육수의 DO는 7.3~8.4 mg/l 였고, pH는 7.6~8.3으로써 사육에 적절한 범위였다.



2. EM-fermented orange 첨가사료의 성장효과

1) 성장 및 생존율

실험 시작시 전장은 8.94 ± 1.04 cm이었으며, 실험 종료시 대조구에서 15.94 ± 1.85 cm로 성장하였고, EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 처리구에서 각각 15.94 ± 1.72 , 16.61 ± 1.75 , 16.42 ± 1.86 , 15.79 ± 1.89 cm로 성장하여, 대조구와 EM-fermented orange 0.20% 처리구간에만 유의한 성장 차이가 있었다(Fig 5, Table 7, $P < 0.05$).

실험 시작시 체중은 8.50 ± 2.93 g이었으며, 실험 종료시 대조구에서 50.47 ± 16.91 g로 성장하였고, EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고

0.02% 처리구에서 각각 49.24 ± 15.58 , 58.41 ± 16.49 , 58.06 ± 19.42 , 48.84 ± 16.51 g로 성장하여, 대조구와 EM-fermented orange 0.20% 및 0.10% 처리구간에 유의한 성장을 보였다(Fig. 6, Table 7, $P < 0.05$).

실험구별 최종 생존율(survival rate)은 대조구에서 87.0%이었고, EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 처리구에서 각각 85.2%, 92.2%, 91.3% 그리고 84.3%로 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 대조구보다 높았으나, 나머지 처리구에서는 대조구와 비슷한 값이었다(Table 7).

총 증중량(total weight gain)은 실험 종료시 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 5232.30 g과 5106.40 g으로 대조구의 4045.00 g보다 증가량이 높았고, EM-fermented orange 10.00%와 0.02% 처리구에서는 대조구의 증중량과 비슷하였다(Table 7).

2) 사료계수, 일간성장률 및 일간섭이율

실험기간동안의 사료계수(feed coefficient), 일간성장률(daily growth rate) 및 일간섭이율(daily feeding rate)에 대한 결과는 Table 8과 같다.

사료계수(feed coefficient)는 대조구에서 1.05였고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 0.83, 0.86으로 사료효율이 양호하였으나, EM-fermented orange 10.00%와 0.02% 처리구에서 1.13과 1.10으로 대조구와 비슷한 값이었다.

일간성장률(daily growth rate)은 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 1.69%, 1.66%로 대조구의 일간성장률 1.53%보다 높은 경향을 보였으며, EM-fermented orange 10.00%와 0.02% 처리구에서 각각 1.53%와 1.53%로 대조구와 같은 값이었다.

일간섭이율(daily feeding rate)은 대조구에서 1.31%였고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 1.11%, 1.12%로 낮았으나, EM-fermented

orange 10.00%와 0.02% 처리구에서 1.45%와 1.38%로 대조구와 비슷한 값이었다.

3) 비만도(Condition factor)

실험 종료 시에 대조구의 비만도는 12.04 ± 1.23 이었고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 12.49 ± 1.33 , 12.69 ± 0.97 로 대조구보다 높았고 ($P < 0.05$), EM-fermented orange 10.00%와 0.02% 처리구에서 11.76 ± 1.04 , 12.02 ± 1.23 으로 대조구와 유사하였다(Table 9, $P > 0.05$).



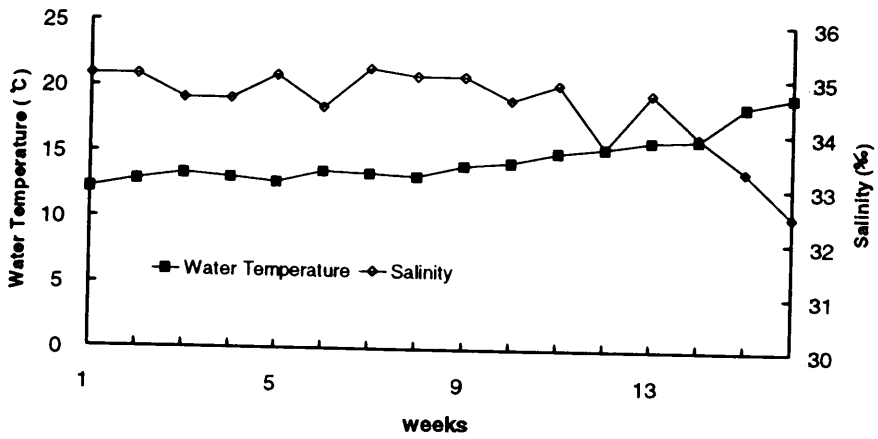


Fig. 3. Weekly changes of water temperature and salinity of sea water in the rearing tank during the study.

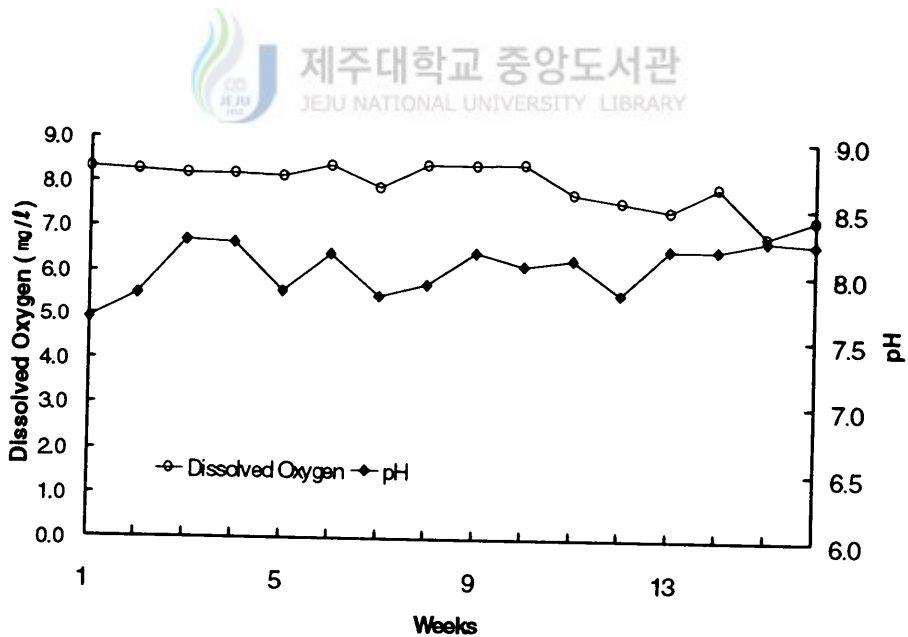


Fig. 4. Weekly changes of dissolved oxygen and pH of sea water in the rearing tank during the study.

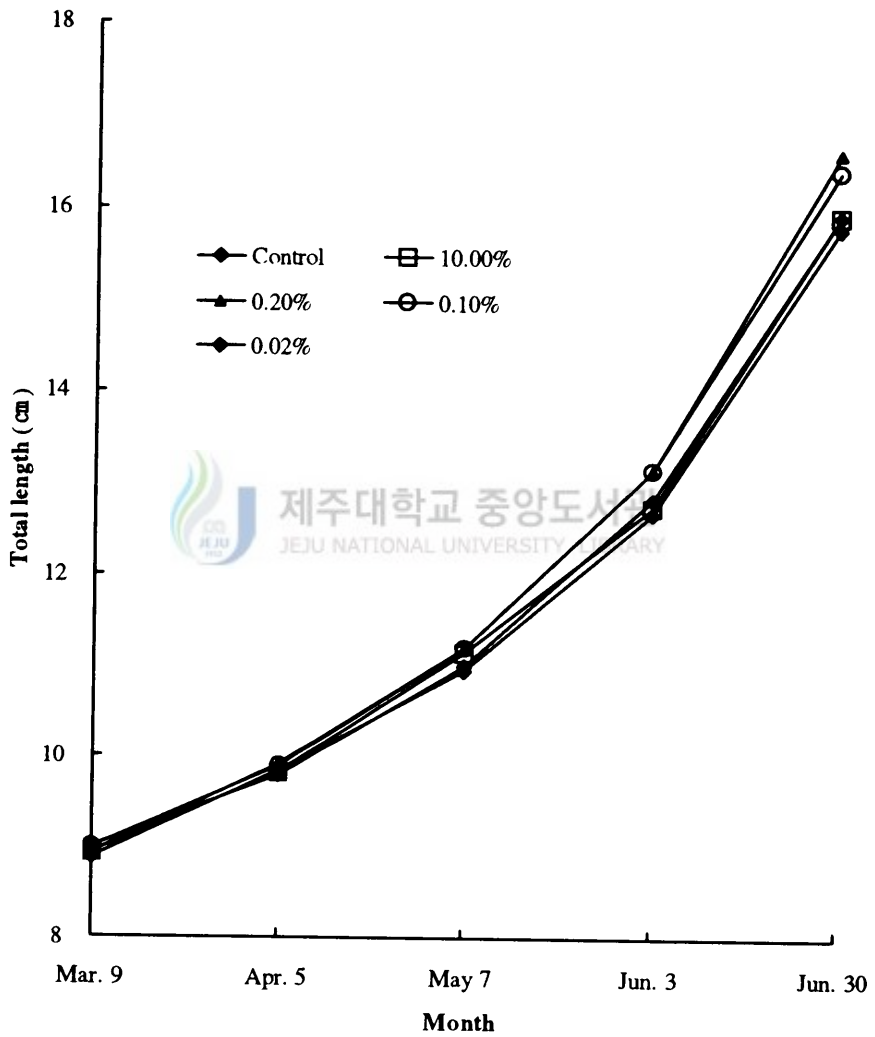


Fig. 5. Changes of the total length of *Paralichthys olivaceus* by oral administration of EM-fermented orange at different concentration.

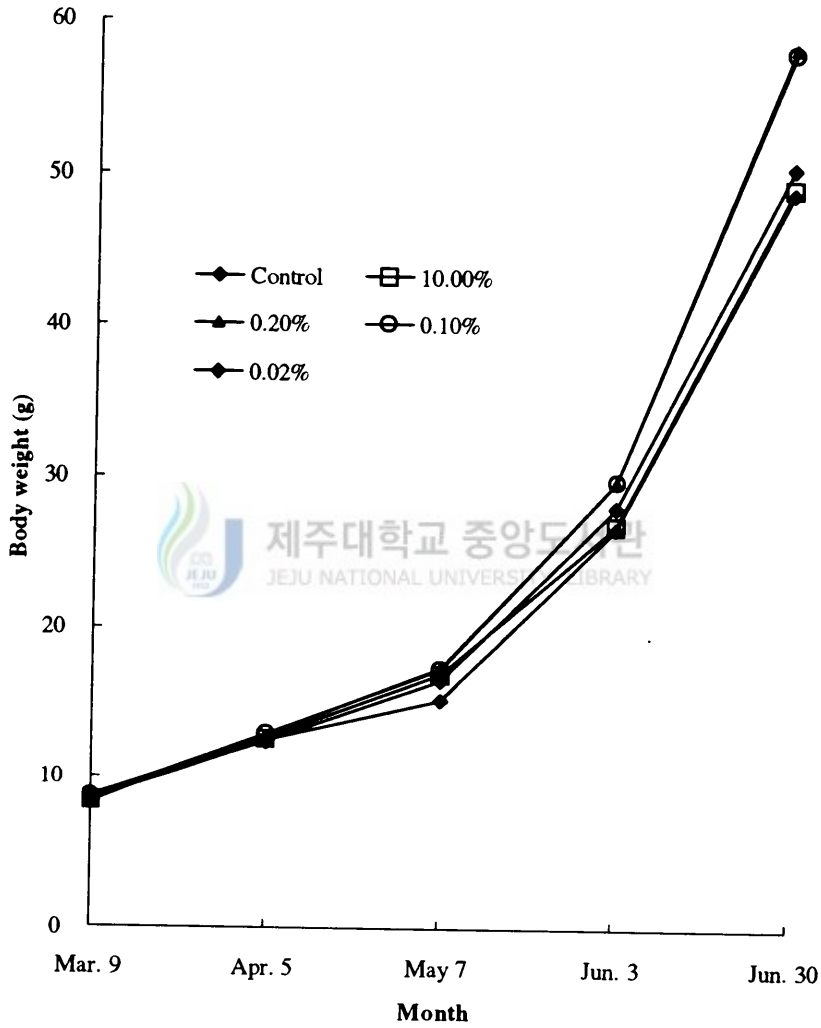


Fig. 6. Changes of the body weight of *Paralichthys olivaceus* by oral administration of EM-fermented orange at different concentration.

Table 7. Total length, body weight and survival rate of *Paralichthys olivaceus* by oral administration of EM-fermented orange at different concentration

Feeding period: Mar. 9, 2000 through Apr. 4, 2000

Experimental group	Initial			Final			Survival rate (%)	
	Number of fish	TL (cm)	BW (g)	Number of fish	TL (cm)	BW (g)		W. gain (g)
Control	115	9.00±1.01	8.71±2.89	108	9.79±1.28	12.36±4.52	333.10	93.7
10.00%	115	8.92±1.10	8.44±3.09	106	9.81±1.34	12.60±4.70	364.10	92.2
0.20%	115	8.92±1.00	8.34±2.64	113	9.90±1.19	12.89±4.48	498.00	98.3
0.10%	115	8.98±1.05	8.61±3.11	110	9.89±1.32	12.90±5.06	436.50	95.7
0.02%	115	8.87±1.07	8.40±2.95	106	9.84±1.26	12.56±4.70	365.00	92.2

Feeding period: Apr. 5, 2000 through May 6, 2000

Experimental group	Initial			Final			Survival rate (%)	
	Number of fish	TL (cm)	BW (g)	Number of fish	TL (cm)	BW (g)		W. gain (g)
Control	108	9.79±1.28	12.36±4.52	104	10.99±1.48	16.48±6.44 ^{ab}	378.80	96.3
10.00%	106	9.81±1.34	12.60±4.70	102	11.13±1.57	16.95±6.90 ^{ab}	393.00	96.2
0.20%	113	9.90±1.19	12.89±4.48	111	11.19±1.43	17.34±6.34 ^a	457.50	98.2
0.10%	110	9.89±1.32	12.90±5.06	106	11.19±1.52	17.22±6.99 ^a	398.20	96.4
0.02%	106	9.84±1.26	12.56±4.70	103	10.95±1.50	15.23±6.23 ^b	237.70	97.2

Values (mean ± s.e.) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

Table 7. continued

Experimental group	Initial			Final			Survival rate (%)	
	Number of fish	TL (cm)	BW (g)	Number of fish	TL (cm)	BW (g)		W. gain (g)
Control	104	10.99 ± 1.48	16.48 ± 6.44 ^{ab}	100	12.83 ± 1.61	28.08 ± 10.28	1094.80	96.2
10.00%	102	11.13 ± 1.57	16.95 ± 6.90 ^{ab}	100	12.75 ± 1.51	26.88 ± 9.43	959.02	98.0
0.20%	111	11.19 ± 1.43	17.34 ± 6.34 ^a	108	13.15 ± 1.62	29.80 ± 10.45	1303.90	97.3
0.10%	106	11.19 ± 1.52	17.22 ± 6.99 ^a	105	13.16 ± 1.70	29.74 ± 11.35	1297.64	99.1
0.02%	103	10.95 ± 1.50	15.23 ± 6.23 ^p	98	12.67 ± 1.67	26.70 ± 10.39	1048.30	95.2

Experimental group	Initial			Final			Survival rate (%)	
	Number of fish	TL (cm)	BW (g)	Number of fish	TL (cm)	BW (g)		W. gain (g)
Control	100	12.83 ± 1.61	28.08 ± 10.28	100	15.94 ± 1.58 ^{pc}	50.47 ± 16.91 ^p	2238.30	100
10.00%	100	12.75 ± 1.51	26.88 ± 9.43	98	15.94 ± 1.72 ^{pc}	49.24 ± 15.58 ^p	2353.26	98.0
0.20%	108	13.15 ± 1.62	29.80 ± 10.45	106	16.61 ± 1.75 ^a	58.41 ± 16.49 ^a	2972.90	98.2
0.10%	105	13.16 ± 1.70	29.74 ± 11.35	105	16.42 ± 1.88 ^{ab}	58.06 ± 19.42 ^a	2974.06	100
0.02%	98	12.67 ± 1.67	26.70 ± 10.39	97	15.79 ± 1.89 ^c	48.84 ± 16.51 ^p	2120.20	99

Values (mean ± s.e.) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P < 0.05).

Table 7. continued

Feeding period: Mar. 9, 2000 through Jun. 29, 2000

Experimental group	Initial			Final			Survival rate (%)	
	Number of fish	TL (cm)	BW (g)	Number of fish	TL (cm)	BW (g)		W. gain (g)
Control	115	9.00 ± 1.01	8.71 ± 2.89	100	15.94 ± 1.58 ^{bc}	50.47 ± 16.91 ^b	4045.00	87.0
10.00%	115	8.92 ± 1.10	8.44 ± 3.09	98	15.94 ± 1.72 ^{bc}	49.24 ± 15.58 ^b	3854.96	85.2
0.20%	115	8.92 ± 1.00	8.34 ± 2.64	106	16.61 ± 1.75 ^a	58.41 ± 16.49 ^a	5232.30	92.2
0.10%	115	8.98 ± 1.05	8.61 ± 3.11	105	16.42 ± 1.88 ^{ab}	58.06 ± 19.42 ^a	5106.40	91.3
0.02%	115	8.87 ± 1.07	8.40 ± 2.95	97	15.79 ± 1.89 ^c	48.84 ± 16.51 ^b	3771.20	84.3

Values (mean ± s.e.) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

* The quantity of EM-fermented orange added to the extruded pellet (EP) was expressed as the percent of the amount of feed supplied.

Table 8. Feed coefficient, daily feeding rate and daily growth rate of *Paralichthys olivaceus* fed with different levels of EM-fermented orange

Feeding period: Mar. 10, 2000 through Apr. 4, 2000

Experimental group	Feed coefficient	Daily growth rate (%)	Daily feeding rate (%)
Control	0.85	1.35	1.05
10.00%	0.75	1.54	1.07
0.20%	0.66	1.68	1.02
0.10%	0.71	1.56	1.02
0.02%	0.75	1.55	1.07

Feeding period: Apr. 6, 2000 through May 6, 2000

Experimental group	Feed coefficient	Daily growth rate (%)	Daily feeding rate (%)
Control	0.92	0.93	0.85
10.00%	0.88	0.96	0.84
0.20%	0.80	0.96	0.76
0.10%	0.86	0.93	0.80
0.02%	1.43	0.62	0.89

Feeding period: May 8, 2000 through Jun. 2, 2000

Experimental group	Feed coefficient	Daily growth rate (%)	Daily feeding rate (%)
Control	0.88	2.05	1.70
10.00%	1.05	1.77	1.79
0.20%	0.77	2.08	1.51
0.10%	0.79	2.10	1.57
0.02%	0.89	2.16	1.81

Table 8. continued

Feeding period: Jun. 4, 2000 through Jun. 29, 2000

Experimental group	Feed coefficient	Daily growth rate (%)	Daily feeding rate (%)
Control	1.20	2.26	2.54
10.00%	1.31	2.33	2.86
0.20%	0.88	2.59	2.13
0.10%	0.91	2.57	2.17
0.02%	1.24	2.32	2.69

Feeding period: Mar. 10, 2000 through Jun. 29, 2000

Experimental group	Feed coefficient	Daily growth rate (%)	Daily feeding rate (%)
Control	1.05	1.53	1.31
10.00%	1.13	1.53	1.45
0.20%	0.83	1.69	1.11
0.10%	0.86	1.66	1.12
0.02%	1.10	1.53	1.38

* The quantity of EM-fermented orange added to the extruded pellet (EP) was expressed as the per cent of the amount of feed supplied.

Table 9. Condition factor of *Paralichthys olivaceus* by oral administration of EM-fermented orange at different concentration

Feeding period: Mar. 9, 2000 through Jun. 29, 2000

Experimental group	Experimental period (week)				
	Initial	4	8	12	16
Control	11.65 ± 1.17	12.68 ± 1.23	11.86 ± 1.10 ^a	12.77 ± 1.14	12.04 ± 1.23 ^p
10.00%	11.58 ± 1.14	12.85 ± 1.37	11.64 ± 0.83 ^a	12.47 ± 0.96	11.78 ± 1.01 ^p
0.20%	11.40 ± 1.10	12.84 ± 1.44	11.86 ± 1.29 ^a	12.62 ± 1.10	12.49 ± 1.33 ^a
0.10%	11.43 ± 1.00	12.77 ± 1.32	11.70 ± 0.87 ^a	12.56 ± 1.36	12.69 ± 0.97 ^a
0.02%	11.41 ± 1.56	12.68 ± 1.37	11.04 ± 1.28 ^p	12.53 ± 1.28	12.02 ± 1.23 ^p

Values (mean ± s.e.) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

3. 소화기관

소화기관의 조직학적 관찰은 위(stomach) 그리고 장(intestine)의 전장(anterior intestine)과 중장(mid intestine) 부분을 중심으로 각각의 소화기관의 점막 주름에 배상세포(goblet cell)의 분포를 검경 하였다. 모든 실험어에서 위의 점막주름에 배상세포는 관찰되지 않았으며(Fig. 7), 전장 점막주름의 배상세포는 대조구에서 25.2 ± 8.9 개였고, EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 처리구에서 각각 32.3 ± 13.3 , 37.6 ± 14.2 , 36.5 ± 14.2 그리고 29.6 ± 11.4 개로 대조구보다 배상세포가 많이 분포하였다(Fig. 8, 9).

중장 점막주름의 배상세포는 EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 처리구에서 각각 48.7 ± 13.8 , 56.3 ± 21.4 , 49.9 ± 18.5 , 49.3 ± 19.9 개로 대조구의 35.1 ± 9.3 개보다 많이 분포하였다(Fig. 8, 9).



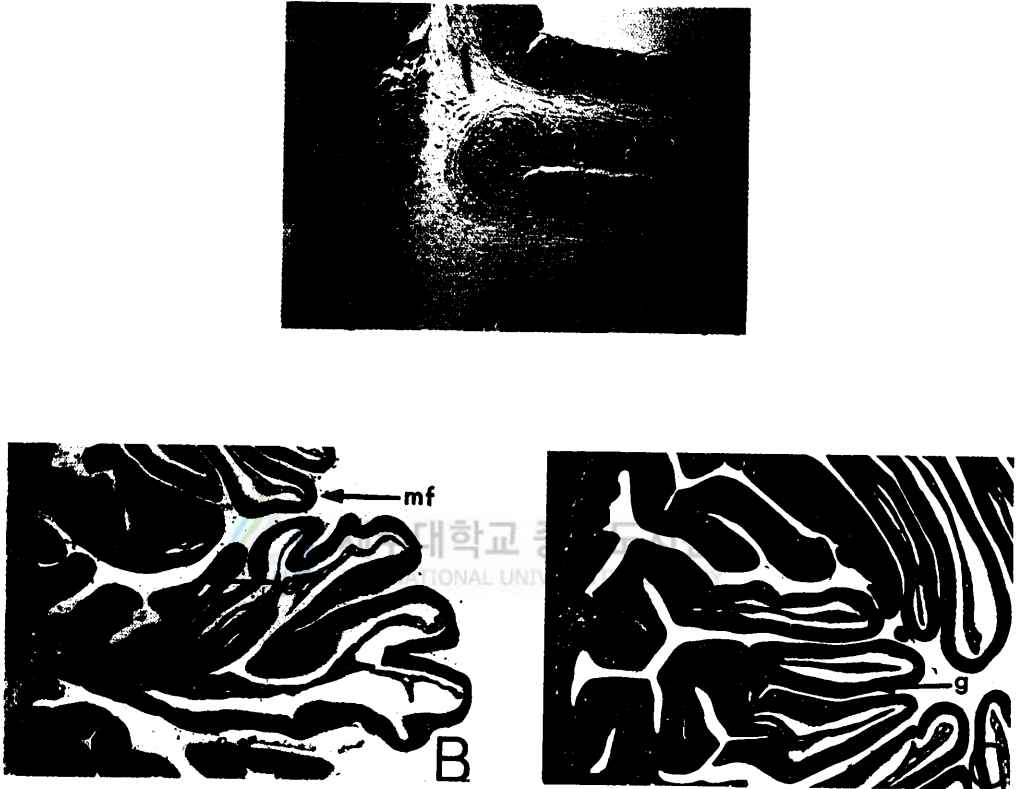


Fig. 7. Photomicrographs of digestive tract of *Paralichthys olivaceus*.

(A) stomach. HE. scale bar = 200 μm .

(B) anterior intestine, AB-PAS. scale bar = 100 μm .

(C) mid intestine AZAN. scale bar = 100 μm .

g: goblet cell, mf: mucosal fold.

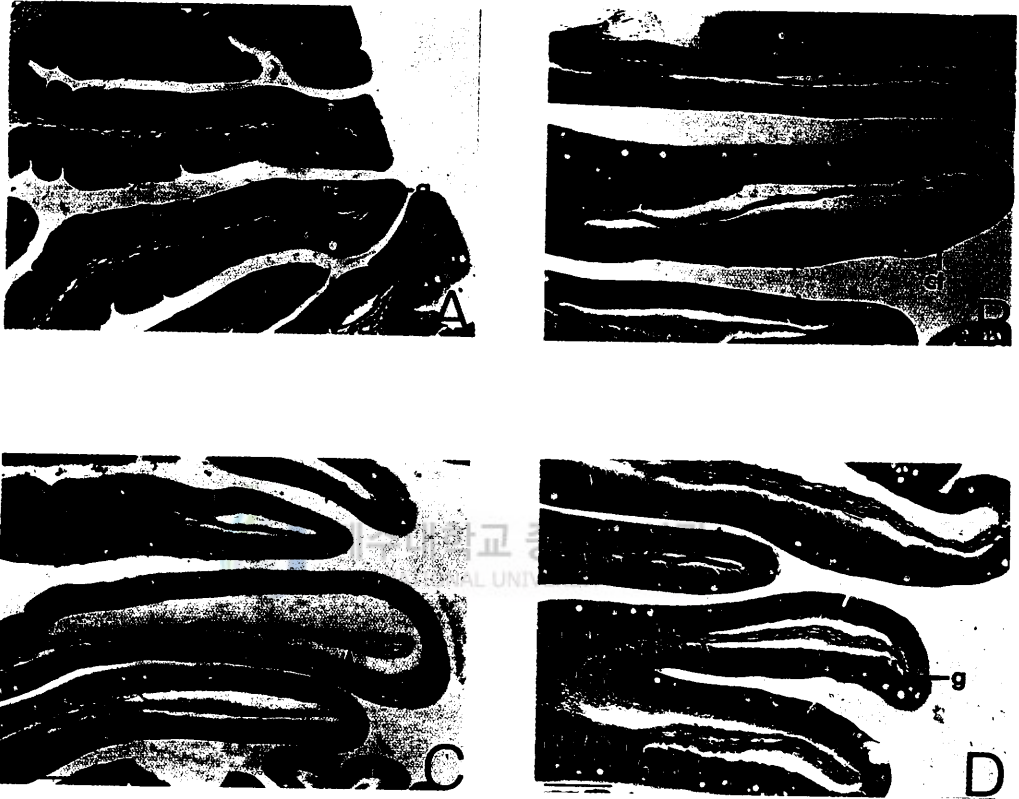


Fig. 8. Photomicrographs of goblet cell and mucosal fold of intestine of *Paralichthys olivaceus*.

(A) anterior intestine, control. (B) anterior intestine, treatment.

(C) mid intestine, control. (D) mid intestine, treatment.

scale bar = 50 μ m. ct: connective tissue. g: goblet cell.

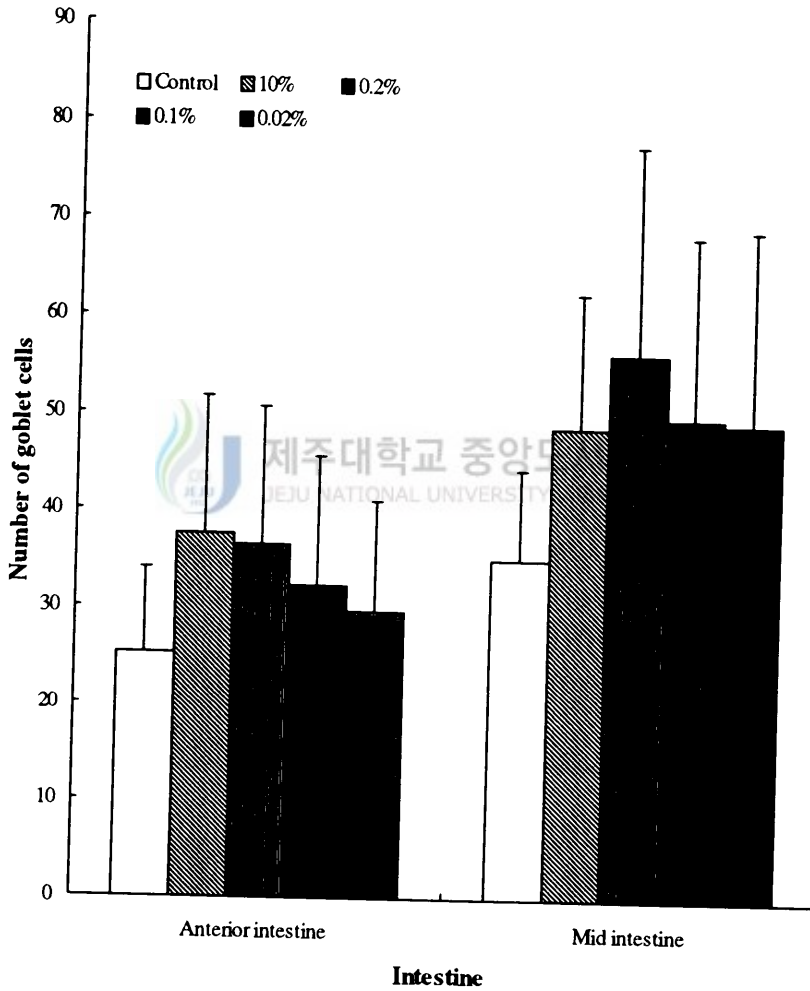


Fig. 9. Change of the goblet cell (number of goblet cells per a mucosal fold) of intestine in *Paralichthys olivaceus* fed with different levels of EM-fermented orange administration to diet.

4. 혈액분석

혈액분석 결과는 Table 10과 같다. GOT 값은 대조구에서 26.8 ± 11.6 IU/ℓ 이었고, EM-fermented orange 10.00%, 0.20% 그리고 0.10% 처리구에서 각각 21.4 ± 12.2 , 22.8 ± 13.4 , 22.3 ± 6.2 IU/ℓ 로 대조구보다 낮은 값이었으나, EM-fermented orange 0.02% 처리구에서는 31.0 ± 11.3 IU/ℓ 로 대조구보다 높은 값이었다.

GPT의 값은 대조구에서 3.4 ± 2.6 IU/ℓ 이었고, EM-fermented orange 10.00% 와 0.20% 처리구에서 각각 2.2 ± 1.1 , 1.25 ± 0.5 IU/ℓ 로 대조구보다는 낮은 값이었으나, EM-fermented orange 0.10%와 0.02% 처리구에서는 4.25 ± 3.4 , 3.0 ± 1.4 IU/ℓ 로 대조구와 유사한 값이었다.

Total cholesterol 양은 대조구에서 192.4 ± 11.3 mg/dl로 가장 높은 값을 보인 반면, EM-fermented orange 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 처리구에서 각각 176.5 ± 15.4 , 170.5 ± 22.3 , 182.3 ± 14.4 , 162.3 ± 14.2 mg/dl로 모든 처리구에서 대조구보다 낮은 값이었다.

Table 10. Levels of GOT, GPT and total cholesterol of the blood plasma with the different levels of EM-fermented orange supplement to diet in *Paralichthys olivaceus*

	Experimental groups				
	Control	10.00%	0.20%	0.10%	0.02%
*GOT (IU/ℓ)	26.8±11.6	21.4±12.2	22.8±13.4	22.3±6.2	31.0±11.3
**GPT (IU/ℓ)	3.4±2.6	2.2±1.1	1.3±0.5	4.3±3.4	3.0±1.4
Total cholesterol (mg/dℓ)	192.4±11.3	176.5±15.4	170.5±22.3	182.3±14.4	162.3±14.2

*GOT: glutamate oxaloaccltate transaminase or AST (asparatate aminotransferase)

**GPT: glutamate pyruvate transaminase or ALT (alanine aminotransferase)

※ analysis method: ABBOTT Spectrum system

IV. 고 찰

최근 들어 국내외적으로 사료의 효율과 생산성향상을 위한 기능성 사료첨가제의 연구 및 개발이 활발히 이루어지고 있다(Rho et al., 1999; Kono et al., 1995). 이 연구에서는 감귤발효액(EM-fermented orange)의 넙치의 성장, 소화관 활성 그리고 혈액 조성 등에 미치는 영향을 조사하였다.

전장은 EM-fermented orange를 사료량의 0.20% 첨가한 처리구에서 16.61 ± 1.75 cm로 대조구의 5.94 ± 1.85 cm보다 유의한 성장 차이가 있었고($P < 0.05$), 체중의 경우 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 58.41 ± 16.49 g, 58.06 ± 19.42 g로 대조구의 50.47 ± 16.91 g보다 15.1~15.7% 성장증가가 있었다(Table 7, $P < 0.05$). 생존율은 대조구에서 87.0%이었고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 92.2%, 91.3%로 대조구보다 높은 경향을 보였다(Table 7). 실험 종료시 총 증중량은 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 5,232.30 g, 5,106.40 g으로 대조구의 4,045.00 g 보다 26.24~29.35% 증중 효과가 있었다(Table 7).

김 등(1998)은 넙치에 한약재를 사료에 첨가하여 공급한 실험에서 실험 4주 후부터, 황(1997)과 권(1998)은 구기자 추출액을 나일틸라피아의 사료에 3.0%를 첨가하여 공급한 실험에서, 체중의 성장이 실험 8주째부터 대조구보다 더 증가되었다고 보고하였고, 알로에 분말을 사료에 0.25% 첨가하여 실험 8주 후에 대조구보다 유의한 증중 효과가 있다고 보고하였다. 양식어류의 성장에 대한 천연물질의 효과는 사육 환경에 따라 차이가 있을 수 있으나, 단기의 급성 효과보다는 일정기간이 지난 후 점진적으로 나타나는 만성 효과인 것으로 예상되어지고, 이번 실험에서도 이와 유사한 경향이였다.

사료계수는 대조구에서 1.05였고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 0.83, 0.86으로 대조구보다 21.0~25.2% 더 향상된 결과를 보여 주었다(Table 8). 일간성장률은 모든 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처

리구에서 1.69%, 1.66%로 대조구의 일간성장률 1.53%보다 좋은 값을 나타내었다(Table 8). 일간섭이율 또한 대조구에서 1.31%이었고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 1.11%, 1.12%로 낮았으나, 10.00%와 0.02% 처리구에서 1.45%와 1.38%로 대조구와 비슷한 값이었다(Table 8). 이 실험에서 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 사료계수 및 일간성장률, 일간섭이율이 대조구보다 향상된 값이었는데, 이것은 한약재 및 키토산, 미역, 알로에, 클로렐라를 각각 넙치, *P. olivaceus* 및 참돔, *Pagrus major* 등의 사료에 첨가하여 공급하였을 때 성장 및 사료효율이 향상된 보고(Nakagawa et al., 1982; Yone et al., 1986; 김 등, 1998; 이 등, 2000; 김 등, 2000; 구 등, 2000)와는 일치한다. 그러나 파래를 사료에 첨가하여 공급하였을 때는 성장 및 사료효율이 저하되었다는 보고(김과 최, 1996)와 상반되는 결과였다.

비만도(CF)는 대조구 12.04 ± 1.23 이었고, EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 각각 12.49 ± 1.33 , 12.69 ± 0.97 로 대조구보다 높았다($P < 0.05$). 이것은 키토산과 한약재를 넙치 사료에 첨가했을 때 비만도가 높게 나타나는 경향(이 등, 2000; 김 등, 1998)과 유사하였다.

EM-fermented orange를 넙치 사료에 첨가·공급했을 때 성장이 좋은 이유로서 감귤이 각종 유기산, 비타민, 베타카로틴, 플라보노이드 등의 영양물질을 함유하고 있으며(조, 1998), 항산화 물질을 생성하는 EM 미생물의 발효에 의해 어류에 대한 감귤 사용이 어려웠던 점을 해결하고, 또한 감귤의 유효 성분뿐만 아니라 효모, 유산균 및 광합성 세균 등의 성장 중에 생산하는 생리활성물질 등이 어체내에서 이용되어지기 때문이라 여겨진다.

어류의 소화기관 중 장 점막주름에 분포하는 배상세포(goblet cell)에 관한 연구로는 뱀장어, *Anguilla japonica*(조와 박, 1972), 전어, *Konosirus punctatus*, 붕어, *Carassius carassius*, 메기, *P. asotus*, 말쥐치, *Thamnaconus modestus*, 그리고 참돔을 대상으로 점액세포의 분비(조 등, 1984), 감성돔, *Acanthopagrus schlegelii*, 통술치, *Erosa erosa*, 그리고 볼락, *Sebastes inermis*(변과 조, 1985), 도다리, *Pleuronichthys cornutus*, 넙치, 풀망둑, *Acanthogobius hasta*, 등가시치, *Zoarcetes*

gillii, 그리고 은밀복, *Lagocephalus lunaris*(최, 1996) 등의 장관 점액세포의 조직 화학적 특성에 관한 연구들이 있으며, 이들 연구에 의하면 장 배상세포의 모양과 크기가 어종 및 같은 어종이라도 부위에 따라 다르고 점액질 성상도 어종 및 장관 부위에 따라 다르게 나타난다고 하였다. 장 배상세포의 물질 공급에 따른 연구로는 제초제와 농약의 흰쥐의 장내 배상세포에 미치는 영향(조와 김, 1987; 이, 1979) 과 흰쥐 십이지장 점액질에 미치는 gramoxone 독성 및 비타민 C의 완화 효과(Jo et al., 1994) 등이 있다. 이들 연구에 의하면 장 점막주름에 위치하는 배상세포의 역할은 소화관 점막표면에 대한 윤택제로서의 물리적 작용 외에 각종 화학적 손상과 세포의 공격에 대해 장 점막을 보호하는 것이고(Allen et al., 1986), 이들 배상세포는 화학물질이나 기능성 영양물질에 의해 파괴되거나 증가하는 것으로 보고되고 있다(조와 김, 1987; Jo et al., 1994).

이 연구에서는 EM-fermented orange를 공급 시 소화관 중 위와 장의 점막주름에 배상세포(goblet cell)의 변화를 관찰하였다. 위에서는 배상세포가 관찰되지 않았으며, 장의 전장과 중장 점막주름에 존재하는 배상세포의 수는 모든 EM-fermented orange 처리구에서 대조구보다 많이 분포하였다. 또한 모든 실험구에서 전장보다는 중장으로 갈수록 배상세포가 증가하는 경향을 보였다. 장 상피의 배상세포 증가는 장을 보호하여 장 활성을 촉진하는 역할을 하는 것으로 생각된다. 그러나 EM-fermented orange에 의한 어류의 장 활성과 관련한 생리적 기작에 관한 연구는 앞으로 더욱 상세한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

간 기능에 대한 간접적인 지표인 GOT, GPT의 변화를 관찰한 이번 실험에서 GOT 값은 EM-fermented orange 0.02%를 제외한 모든 처리구에서 $21.4 \pm 12.2 \sim 22.3 \pm 6.2$ IU/ℓ 로 대조구의 26.8 ± 11.6 IU/ℓ 보다 낮은 값을 나타내었고, GPT의 값은 EM-fermented orange 0.20%와 10.00%에서 각각 $1.3 \pm 0.5 \sim 2.2 \pm 1.1$ IU/ℓ 로 대조구의 3.4 ± 2.6 IU/ℓ 보다 낮은 값을 보였다(Table 10). 키토산을 공급한 넙치의 성장 효과(이 등, 2000)에서 GOT는 키토산 처리구가 9.8~13.5 Unit/ml로 대조구의 17.8 Unit/ml보다 낮았고, GPT는 키토산 처리구가 3.5~3.6 Unit/ml로 대조구의 3.9 Unit/ml보다 낮았다는 결과와 비슷한 EM-fermented orange

처리구에서 대조구보다 낮은 값이었다. Total cholesterol의 양은 모든 EM-fermented orange 처리구에서 $162.3 \pm 14.2 \sim 182.3 \pm 14.4$ mg/dl로 대조구의 192.4 ± 11.3 mg/dl보다 낮은 경향을 나타내었다. 어류의 혈액내 적정 GOT, GPT 및 total cholesterol의 양은 아직까지 어조에 따른 그 기준 범위가 구체화되고 있지 않으나, 대조구와 처리구를 비교하여 보면, EM-fermented orange는 어류의 간 기능을 향상시키고, 혈중 cholesterol을 저하시키는 것으로 판단되었다.

EM-fermented orange는 사료 효율의 증가와 장 활성으로 넙치의 성장과 생리 활성에 보조하는 사료 첨가제로서 이용가치가 높다고 사려된다.



V. 요약

제주산 은주 밀감을 EM (Effective Microorganism)에 의해 발효시킨 EM-fermented orange를 넙치 사료에 첨가하여 공급하였을 때 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장 및 소화기관 활성 그리고 혈액조성에 미치는 영향을 분석하고, 감귤발효액이 넙치 사료의 사료첨가제로 이용가능성을 검토하였다.

EM-fermented orange를 사료량의 10.00%, 0.20%, 0.10% 그리고 0.02% 첨가한 처리구와, EM-fermented orange를 첨가하지 않고 사료만을 공급한 대조구로 하였다.

성장실험에 있어서 전장은 EM-fermented orange 0.20% 처리구에서 대조구보다 높았다($P < 0.05$). 체중 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 대조구보다 양호한 성장을 하였다($P < 0.05$). 총 증중량은 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구에서 대조구보다 26.24~29.35% 증중 효과가 있었다.

생존율, 사료계수, 일간성장률 그리고 비만도에서 EM-fermented orange 0.20%와 0.10% 처리구가 대조구보다 향상된 결과를 나타내었다.

소화기관 중 배상세포의 분포는 장의 점막주름에서만 나타났으며, 장 점막주름에 존재하는 배상세포(goblet cell)의 수는 전장(anterior intestine)과 중장(mid intestine) 모두 대조구보다 많은 것으로 관찰되고, 또한 전장 보다 중장으로 갈수록 대조구와 처리구 모두 배상세포가 많았다.

GOT, GPT 그리고 total cholesterol의 값은 EM-fermented orange 처리구에서 대조구보다 대부분 낮은 경향을 보였다.

EM-fermented orange를 넙치사료에 첨가하였을 때, 넙치의 사료효율 증가와 장 활성으로 넙치의 성장과 생리활성에 보조하는 사료첨가제로서 이용가치가 높은 것으로 사려된다. EM-fermented orange의 적정 첨가농도는 사료량의 0.10~0.20%였다.



VI. 참고문헌

- Allen, A., D. A. Hutton, A. J. Leonard, J. P. Pearson and L. A. Sellers. 1986. The role of mucus in the protection of the gastroduodenal mucosa. *Scand J. Gastroenterol.*, 21(suppl. 125), 71~77.
- Bilton, H. T., D. F. Alderdice and J. T. Schnute. 1982. Influence of time and size at release of juvenile coho salmon on returns at maturity. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 39, 426~447.
- Ishioka, H., R. Kosugi, K. Ouchi, A. Hara, T. Nagamatsu, S. Mihara, and H. Ogai. 1992. Effects of recombinant red sea bream growth hormone on growth of young red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58(12), 2335~2340.
- Jo, U. B., S. R. Kim and B. T. Choi. 1994. Alleviating effects of vitamin C on the gramoxone toxicity in the mucosubstances of rat duodnum. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23(3), 396~401.
- Kawauchi, H., S. Moriyama and T. Hirano. 1992. Oral administration of recombinant salmon growth hormone to rainbow trout. *Oceanis.*, 18, 109~120.
- Kono, M., K. Y. Matahiru and K. Sakai. 1995. Effect of D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine as diet supplement on the growth of cultured fish. *Research of Chitin · Chitosan*. 1, 144~145.
- Lee, J. M. 1988. Histological studies on the digestive tracts of the larvae and juveniles of the right-eye flounder, *Limanda yokohama* (Gunther), Graduate School Nat. Fish. Univ. Pusan. 1~28.
- Nakagawa, H., Y. Inazuka, S. Yamasaki, H. Hirata and S. Kshara. 1982. Effect of feeding of chlorella-extract supplement in diet on

- cultured yellow tail- I Growth and blood properties. *Aquaculture*. 30, 60~75.
- Ricker, W, E. 1969. Effect of size-selective mortality and sampling bias on estimates of growth, mortality, production and yield. *J. Fish. Res. Board Can.*, 26, 479~541.
- Rho, S., P. Y. Kim, Y. D. Lee, K. S. Choi and C. B. Song. 1999. Effect of recombinant bovine somatotropin on growth of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquaculture*. 12(2), 79~89.
- Steiny, S., D. King and R. Nishioka. 1984. Partial primary structure of coho salmon growth hormone(sGH). Abstracts 7th international congress of endocrinology, July 1~7, Quebec City, Canada. *Excerpta Medica. International Congress Series.*, 652, 1261.
- Suzuki, Y., M. Kobayashi and K. Aida. 1988. Transport of physiologically active salmon gonadotropin into the circulation in goldfish, following oral administration of salmon pituitary extract. *J. Comp. Pysiol.*, 157, 753~758.
- Wagner, G. F., R. C. Fager and J. C. Brown. 1985. Further characterization of growth hormone from the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 60, 27~34.
- Yone, Y., M. Fruichi 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 levels of red seabream. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 52(10), 1817~1819.
- 比嘉照夫. 1995. EMで生ゴミを活かす, サンマノク出版.
- 比嘉照夫. 1998. EM 産業革命.サンマノク出版.

- 구자완·배승철·김세권. 2000. 상품 사료내 클로렐라 분말의 첨가가 치어 기 넓치의 성장에 미치는 영향. 춘계수산물관련 공동학술대회. 306~307.
- 권문경. 1998. 구기자 공급 및 백신 처리가 나일 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 면역반응에 미치는 효과. 부경대학교 석사학위 논문. 3~62.
- 김봉원. 1999. 자주복, *Takifugu rubripes* 자치어 소화기관 발달의 조직학적 연구. 제주대학교 석사학위 논문. 3~33.
- 김강웅·구자완·김기홍·배승철. 2000. 사료내 알로에 첨가가 치어기 넓치의 성장과 영양에 미치는 영향. 춘계수산물관련 공동학술대회. 302~303.
- 김조연·최민순. 1996. 파래첨가 사료가 이스라엘계 잉어, *Cyprinus carpio*의 성장 및 혈액성상에 미치는 영향. 한국양식학회지. 9(2), 151~157.
- 김동수·김종현·정창화·이상운·이상민·문영봉. 1998. 한방사료 첨가제인 어보산의 효과. I. 넓치의 생존율, 성장, 사료효율 및 비만도에 미치는 영향. 한국양식학회지. 11(2), 213~221.
- 김이청. 1999. 구기자공급이 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 면역반응에 미치는 영향. 부경대학교 대학원 박사학위논문. 5~14.
- 변경애·조운복. 1985. 감성돔, 통솔치 및 볼락 장관 점액질의 조직화학적 성상. 부산대학교 자연과학 논문집. 40, 251~269.
- 오상필·김대환·이정재·이창훈. 1998. 제주도 넓치의 세균성 질병 발생상황(1991년~1997). 한국어병학회지. 11(1), 23~29.
- 이무근. 1979. 유기인제제 농약이 흰쥐의 십이지장선 및 십이지장 점막 배상세포내 점액질에 미치는 영향에 관한 조직화학적 연구. 대한해부학회지(별판). 12(2), 111~127.
- 이정식·김홍윤·변순규·김진도·고창순·진평. 2000. 감성돔, *Acanthopagrus*

- schlegeli*의 초기생활사 동안 소화기관 발달. 한국수산학회지. 33(2), 129~136.
- 이영돈 · 송영보 · 문순주 · 박승림 · 문영배. 2000. 키토산올리고당을 투여한 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장 효과. 춘계수산관련학회 공동학술 대회. 290~291.
- 조운복 · 김봉선. 1987. 제초제 Gramoxone이 흰쥐 소장 배상세포내 점액질에 미치는 영향에 관한 조직화학적 연구. 대한해부학회지(별책). 20(2), 299~317.
- 조운복 · 김봉선 · 최인장 · 백선영 · 신인성. 1984. 경골어 장관 점액세포내 점액질의 조직화학적 성상. 부산대학교 자연과학 논문집. 37, 318~327.
- 조운복 · 박해춘. 1972. 양서류 및 어류의 소화기관 점막에 관한 비교 조직화학적 연구. 부산대학교 논문집. 13, 383~403.
- 조운복 · 최병태 · 강진 · 조기진 · 김재호 · 장혜영. 1996. 흰쥐 십이지장의 점액질에 미치는 Ricin 독성에 대한 조직화학적 연구. 대한해부학회지. 29(3), 221~227.
- 조현준. 1998. 감귤함유기능성물질. 감귤연구소식. 제2권 10호. 24~28.
- 최정수. 1996. 도다리, 넙치, 풀망둑, 등가시치 및 은밀복 장관점액질의 조직화학적 연구. 부산대학교 교육학 석사학위 논문. 3~27.
- 황미혜. 1997. 나일 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 면역반응에 대한 생약제 투여 효과. 부경대학교 석사학위 논문. 3~45.

감사의 글

이 연구를 수행하고 논문을 완성하기까지 부족함이 많았던 저를 늘 변함 없는 배려와 따뜻한 격려로 이끌어 주신 이영돈 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 그리고 바쁘신 중에도 잊지 않고 미흡한 저의 논문을 정성껏 다듬어 주신 노 섬 교수님과 이제희 교수님께 진심으로 감사의 말씀을 올립니다. 많은 관심과 자상한 충고를 아끼지 않으셨던 이정재 교수님, 정상철 교수님, 이기완 교수님, 송춘복 교수님, 최광식 교수님, 허문수 교수님, 여인규 교수님께도 깊은 감사드립니다.

이 연구를 위해서 물심양면으로 도움을 주신 문상욱 선배님께도 감사드립니다. 실험과 자료정리를 위해 많은 시간을 동고동락하며 성심 성의껏 도와주신 발생학 실험실의 종표형, 봉래형, 오수형, 성립형, 성보, 봉원이, 치훈, 정권, 호진, 진완, 창범, 한준, 범호, 성민, 정남, 지웅, 영관, 정훈에게 고마움을 전하며, 멀리 이국땅에서 항상 격려를 아끼지 않았던 병호형, 봉수, 용주, 순주에게도 감사드립니다. 아울러 늘 옆에서 많은 조언을 해주신 변수철 선배님을 비롯한 영웅이와 대학원 선�후배님들과 항상 성원을 해주신 주위 모든 분들께 감사드립니다.

끝으로 오늘이 있기까지 어려운 여건에서도 항상 사랑과 희생으로 뒷바라지하시느라 고생하신 사랑하는 어머니와 누님가족, 형과 새로운 출발을 한 동생가족에게 마음 속 깊은 감사드리며, 이 작은 결실로 대신하고자 합니다.

이 연구는 제주대학교 해양연구소의 시설과 기자재를 이용하여 수행하였고, 연구수행에 큰 도움을 주신 해양연구소 직원 여러분께 진심으로 사의를 표합니다.