

국내산 봉독의 어류병원성 세균에 대한 항균활성

한상미[†] · 이광길 · 박관규*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부, *대구가톨릭대학교 의과대학

Antimicrobial activity of honeybee venom against fish pathogenic bacteria

Sang Mi Han[†], Kyung Gill Lee and Kwan Kyu Park*

Division of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea

*College of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu, 712-702, Korea

In this study, we examined antimicrobial activity of the bee venom isolated from honeybee (*Apis mellifera* L.) against fish pathogenic bacteria, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri* and *Streptococcus iniae* of cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. The bee venom exhibited significant antimicrobial activity against the both Gram-negative bacteria, *E. tarda* and *V. ichthyenteri* and Gram-positive bacteria, *S. iniae*. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the bee venom were 17.6 $\mu\text{g/ml}$, 34.6 $\mu\text{g/ml}$ against *E. tarda*, and 1.76 $\mu\text{g/ml}$, 6.8 $\mu\text{g/ml}$ against *V. ichthyenteri*, respectively. MIC and MBC of the bee venom were 3.49 $\mu\text{g/ml}$, 11 $\mu\text{g/ml}$, respectively against *S. iniae*. The postantibiotic effect (PAE) of the bee venom was 5 hr, 6 hr, and 7 hr against *E. tarda*, *V. ichthyenteri*, and *S. iniae*, respectively. In addition, its antimicrobial activity was stable under various pH conditions. According to these results, the bee venom showed the excellent antimicrobial activity against the tested pathogenic bacteria.

Key words : Honeybee venom, Antimicrobial activity, Fish pathogenic bacteria, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri*, *Streptococcus iniae*

현재 우리나라의 양식산업은 연안의 환경오염, 어류 양식장에서의 밀집양식으로 인한 질병 증가, 영양 상태 불균형 등과 같은 요인들로 인하여 어류의 성장 저하 및 폐사가 발생하는 문제가 심각하게 대두되고 있다(Kang, 2005). 이에 사료에 첨가제를 첨가하여 이들 문제점을 해결토록 하는데, 통상적으로 사용되는 사료첨가제로는 항생제, 비타민제, 아미노산 공급제, 광물질 공급제, 효소제, 호르몬제 등이 있다(전

등, 2009; Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2010b). 그러나 이러한 사료첨가제들은 과다 급여 시 양식어류들이 약품에 대한 내성이 증가하여 약제 남용을 야기시킬 수 있으며, 이로 인하여 양식된 어류에는 상기 유해물질들이 축적되어 어류 섭취시 인체에 유해할 수 있는 유해물질을 간접적으로 섭취할 수 있다는 점이 수산물 안전성 면에서 문제점을 갖게 된다(성 등, 2010). 또한 미생물 유래 항생제나 합성항균제들의 효력이 점점 낮아지고 있을 뿐만 아니라, 기존의 약물로는 치료가 힘든 새로운 질병들이 등장하고 있다(Choi *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2010a). 따라서, 환경오염 감축

[†]Corresponding Author: Sang Mi Han

Tel : +81-31-290-8510 Fax : +81-31-290-8516

E-mail : sangmih@korea.kr

및 친환경 어류 생산을 위해 오랫동안 입장에서 사용되어 안전성과 효과가 증명된 천연물 유래의 항균활성 또는 면역증강활성물질로부터 천연항생제를 비롯한 안전한 대체 소재 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다(Seo *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010a).

순수 천연물질이면서 강력한 항균, 항염증 및 면역증강 등의 효과를 갖는 봉독은 부작용과 잔류에 대한 위험성이 적어 봉침요법으로 오래전부터 관절염, 통풍 등의 질환에 사용되어 오고 있다(김, 1992; Abbadie and Besson, 1994; Yoon *et al.*, 2009). 봉독은 다양한 성분이 복합적으로 구성되어 있으며, 건조봉독의 40% 이상을 차지하는 주성분인 멜리틴(melittin)은 항염증(Habermann and Reiz, 1965; Vick and Shipman, 1972; Kwon *et al.*, 2006; Moon *et al.*, 2007)과 항균작용(김, 1992), 강력한 진통작용(Curcio-Vonlanthen *et al.*, 1997; Yoon *et al.*, 2009), 면역증강(Rudenko and Nipot, 1996) 등의 역할을 한다고 알려졌다. 국내에서는 봉독 채집장치를 사용하여 채집한 봉독이 자돈, 젖소, 한우 등 가축에 처리했을 때 체중 및 생존율 증가와 같은 생산성 향상과 질병 감소에 효과를 나타낸다고 보고되어 축산농가에서 기존 항생제 대체 천연항생제로서 사용하고 있다(Han *et al.*, 2009a; Han *et al.*, 2009b; Han *et al.*, 2010a). 특히 봉독은 여드름 유발균인 *Propionibacterium acne*와 피부 상재균인 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* 및 *Streptococcus pyogenes*에 대한 강한 항균력과 상처 및 자외선에 의해 손상된 피부의 재생을 촉진한다고 밝혀져 화장품의 원료로 사용되고 있다(Han *et al.*, 2010b; Han *et al.*, 2011).

최근들어, 우리나라에서는 어종에 따라 차이가 있으나, 에드워드병, 비브리오행균증, 연쇄구균증, 활주세균증 등에 의한 피해가 심각한 것으로 보고되고 있다(Kang 2005; Cho *et al.*, 2007). 특히, 주요 양식어종의

하나인 넙치에서의 에드워드병이나 비브리오행균은 해산양식어류 질병에서 차지하는 비중이 매우 큰 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2010b). 따라서 본 연구에서는 폐사한 넙치로부터 분리한 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri*, *Streptococcus iniae*에 대한 봉독의 항균활성을 조사하여 양식어류에 대한 질병 예방 및 치료제로서의 가능성을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

봉독 및 어병균주

본 연구에서 사용한 봉독은 국내 양봉농가에서 사육되는 이탈리아계통의 서양종 꿀벌(*Apis mellifera*, L.)을 봉독채집장치를 사용하여 채집한 후 봉독의 간이 정제법을 이용하여 순수한 봉독만을 정제한 봉독을 실험에 사용하였다(한 등, 2005). 어류 병원성 세균은 폐사한 넙치로부터 분리, 동정한 *Edwardsiella tarda* FP5060, *Vibrio ichthyenteri* FP4004와 *Streptococcus iniae* FP5228을 국립수산물과학원 전략양식연구소로부터 분양받아 1% NaCl이 첨가된 brain heart infusion(BHI) broth에 접종하고 25°C에서 100 rpm으로 진탕하면서 18시간 배양하여 실험에 사용하였다. 양성대조균으로 시판용 항생제인 ampicillin(BBL, USA)과 oxytetracycline(BBL, USA)을 구입하여 사용하였다.

항균활성 측정

봉독은 멸균 증류수에 희석한 후 무균여과하여 paper disc(직경 8 mm, Advantec, Japan)에 50 μ l씩 흡습시킨 후에 크린벤치에서 자연건조하였으며, 이때 disc당 봉독의 함유량은 50, 25, 10, 5, 2.5 및 1 μ g이 되도록 하였다. *E. tarda*, *S. iniae* 그리고 *V. ichthyenteri*는 각각 MacFaland No. 0.5가 되도록 멸

균생리식염수로 현탁 조정하였다. BHI 평판배지에 현탁균액 200 μ l씩을 골고루 도말한 다음, 붕독이 함유된 paper disc를 올려놓고 25°C에서 24~48시간 동안 배양한 후, 배지위에 형성된 저지환을 vernier caliper로 측정하였다.

최소발육저지농도

(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

붕독을 1% NaCl이 첨가된 BHI배지로 희석한 후 무균 여과하여 액체배지희석법에 준하여 단계적으로 희석하여 최소발육저지농도를 구하였다(Wu and Hancock, 1999). 각각의 접종 균은 2×10^6 CFU/well이 되도록 조절하여 붕독 시료와 함께 25°C에서 24시간 동안 배양한 후, 육안 및 현미경으로 균의 성장을 관찰하였고, 흡수파장 540nm에서 흡광도를 측정하여 최소억제농도로 결정하였다.

최소살균농도

(Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

1% NaCl이 첨가된 BHI배지로 붕독을 희석한 후 무균 여과하여 액체배지희석법에 준하여 단계적으로 희석한 후 2×10^6 CFU/well이 되도록 조절한 각각의 균주에 접종하여 25°C에서 24시간 동안 배양하였다. 각각의 배양액 100 μ l를 새로운 1% NaCl BHI배지에 접종하여 25°C에서 24시간 동안 배양한 다음 흡광도 (540nm)를 측정하여 증식이 일어나지 않은 농도를 최소살균농도로 나타내었다.

살균력 지속시간

(Postantibiotic Effect, PAE)

어병균주에 대한 붕독의 살균력 지속시간을 측정하기 위하여 1×10^8 CFU/ml로 조절한 균주에 $2 \times$ MIC값 농도의 붕독과 함께 1시간 동안 배양한 후

원심분리와 배지 희석법을 사용하여 붕독성분을 제거하였다 (Matthew and Levison, 2004). 이후 새로운 배지로 교환하여 25°C 배양기에서 배양하며 2시간 간격으로 균수를 측정하였다. 이때 PAE 수치가 클수록 항균 지속 효과가 우수하다고 할 수 있으며, PAE를 구하는 식은 아래와 같다.

$$PAE = T - C$$

T : 붕독을 처리한 시험구에서 $1 \log^{10}$ 까지의 생육에 걸리는 시간

C : 무처리구에서 $1 \log^{10}$ 까지의 생육에 걸리는 시간

pH변화에 따른 붕독의 항균활성의 안정성

붕독의 pH변화에 따른 항균활성의 안정성은 HCl과 NaOH를 사용하여 조절된 각각의 용액에 붕독을 희석한 다음 상온에서 24시간 동안 처리한 다음 pH 7.0으로 중화하여 항균력을 측정하였다.

결과 및 고찰

어류질병세균에 대한 붕독의 항균활성

붕독의 어류질병세균에 대한 항균활성은 Table 1과 같다. 우리나라의 양식 넙치 (*Pardichthys olivaceus*)에서 분리한 병원성 세균에 대한 tetracycline과 ampicillin 등과 같은 항균제에 대한 내성률은 42.6~94.6%로 매우 높은 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2010a). 특히 *E. tarda*, *Streptococcus* spp. 그리고 *V. ichthyenteri*는 tetracycline과 ampicillin 등은 2종류 이상의 항균제에 다제내성을 나타내는 것으로 보고되었다.

천연물질인 붕독은 그람 음성 및 양성균에 대해 모두 항균작용을 보이나, 특히 그람양성균에서 더 강한 것으로 알려져 있다 (김, 1992) 어류질병세균에 대한 붕독의 항균활성은 Table 1의 결과와 같이 그람

음성과 양성균에서 모두 항균활성을 나타내었으며, 그람음성균인 *V. ichthyenteri*에 대하여 높은 항균활성을 보였다.

Table 1. Antimicrobial activity of honeybee venom on the fish pathogenic bacteria (Diameter of inhibitionzone (mm))

Bacteria	Bee venom($\mu\text{g}/\text{disc}$)						OT
	50	25	10	2.5	1	10	
<i>Edwardsiella tarda</i> FP5060	22	21	19	10	-	-	15
<i>Streptococcus iniae</i> FP5228	31	27	22	13	10	16	-
<i>Vibrio ichthyenteri</i> FP4004	32	29	24	14	10	14	13

AM: ampicillin; OT: oxytetracycline.-: no inhibition

최소발육저지농도 및 최소살균농도

봉독의 어류질병세균에 대한 최소발육저지농도 및 최소살균농도를 Table 2에 나타내었다. 봉독의 *S. iniae*와 *V. ichthyenteri*는 각각 3.49 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 1.76 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며, *E. tarda*에 대한 최소발육저지농도는 17.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 확인되었다. 최소살균농도는 *E. tarda*는 34.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$, *V. ichthyenteri*는 6.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이며 *S. iniae*는 11 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 강한 살균작용을 나타내었다.

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of honeybee venom against fish pathogenic bacteria

Bacteria	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	MBC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
<i>Edwardsiella tarda</i> FP5060	17.6	34.9
<i>Streptococcus iniae</i> FP5228	3.49	11
<i>Vibrio ichthyenteri</i> FP4004	1.76	6.8

정 등(Jung and Kim, 2000)의 어류 질병에 상용되고 항생제의 주요 어류질병세균에 대한 최소발육저지농도를 측정할 결과, *V. ichthyenteri*와 *E. tarda*, *S. iniae*에

대한 최소발육저지농도에 있어 페니실린계인 ampicillin, amoxicillin 등은 >100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 라고 보고하였다. 봉독은 table 2에서 보는 바와 같이 *E. tarda*, *S. iniae*와 *V. ichthyenteri*에 대한 최소발육저지농도가 1.76~17.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 이들 항생제보다 강한 항균활성을 가지고 있음을 알 수 있었다. *E. tarda*와 *S. iniae*에서 항균력이 낮게 나타나는 퀴논계(quinolones) 항생제인 flumequine(>50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, >100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 각각)과 pefloxacin(>50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, >100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 각각)인 보다 봉독이 강한 항균효과를 나타내었다 (Table 2). 또한, macrolide- lincosamide-streptogramin계 항생제인 erythromycin과 spiramycin 등은 *E. tarda*와 *V. ichthyenteri*에 대한 항균효과는 낮으며(>100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 각각), 또한 linomycin에서도 매우 낮은 항균효과를 나타내었다. 이와 같이 기존 항생제는 그람양성균과 음성균의 종류에 따라 항균효과가 크게 발생하며 항생제 내성으로 인해 질병의 치료와 예방을 어렵게 하고 있다(Choi *et al.*, 1996). 그러나, 양식장에서 어류의 질병발생은 단일 세균에 의한 질병보다 2종 이상의 세균에 의한 합병증의 사례가 많아 양식장에서 큰 피해를 입고 있으며, 이는 서로 다른 약리학적 특성을 가진 병원성 세균 때문에 단일 약제만으로는 충분한 예방 및 치료 효과를 거둘 수 없다고 알려져 있다(Jung and Kim, 2000; Chang *et al.*, 2010).

따라서, 봉독은 기존항생제와는 달리 *E. tarda*, *V. ichthyenteri*와 *S. iniae*에 대해 모두 높은 항균력을 갖고 있는 것으로 확인되었으며, 정균작용은 물론 살균작용을 나타내므로 그람양성세균과 음성세균이 복합적으로 어류에 감염되어 발병하는 어류의 질병의 예방과 치료에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

살균력 지속시간

봉독을 제거한 이후 항균력지속시간을 확인한 결

과 table 3과 같은 결과를 얻었다. 최소발육저지농도의 2배 농도로 세균에 처리하여 1시간 동안 반응을 시킨 후 봉독을 제거했을 때 항균효과는 *E. tarda*와 *V. ichthyoenteri*는 각각 5시간, 6시간, *S. iniae* sp는 7시간 동안 균의 생장이 억제됨을 확인하였다. 이와 같은 결과로 봉독을 제거한 이후에도 항균효과가 비교적 길게 지속되는 것으로 추측되었다.

Table 3. Postantibiotic effect(PAE) of honeybee venom against fish pathogenic bacteria

Bacteria	PAE (hr)
<i>Edwardsiella tarda</i> FP5060	5*
<i>Streptococcus iniae</i> FP5228	7
<i>Vibrio ichthyoenteri</i> FP4004	6

* was exposed to 2 × MIC of honeybee venom for 1 hr

pH에 따른 항균활성의 변화

pH 2.0에서부터 pH 11.0까지 조절한 봉독에서 pH에 따른 봉독의 항균활성의 변화를 알아보고자 하였다. 그 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 pH변동에 따른 봉독의 항균활성 차이가 전혀 관찰되지 않았다. 따라서 봉독은 세균성 질병의 제어를 위하여 어체에 경구 투여할 경우에도 항균활성의 큰 변동 없이 효과를 기대할 수 있는 장점으로 작용 할 것으로 사료된다. Table 4. The effects of pH on antimicrobial activity of honeybee venom

Bacteria	pH				
	2	4	7	9	11
<i>Edwardsiella tarda</i> FP5060	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Streptococcus iniae</i> FP5228	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Vibrio ichthyoenteri</i> FP4004	+++	+++	+++	+++	+++

^{a)} The concentration of honeybee venom loaded on disc was 10 µg/disc, respectively.

^{b)} Diameter of inhibition zone: 10~15 mm; +, 16~20; ++, 21~25; +++

기존 항생제는 항생제 계열별, 어병세균 종류에 따라 항균효과에 차이를 보이며 또한 내성균주 발생으로 인한 문제점이 대두되고 있는 실정이다. 이미 인체와 가축의 질병 예방 및 치료용으로 사용되고 있는 봉독은 어병세균 대상종에 대하여 광범위한 항균능을 나타내고 있는 천연물질로서 어류질병 예방과 치료제로서 유효하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 양식 넙치의 주요 어병세균인 *E. tarda*, *V. ichthyoenteri*와 *S. iniae*에 대한 국내산 꿀벌로부터 분리한 봉독의 항균활성을 검색하였다. 그 결과 봉독은 폐사 납치로부터 분리한 그람음성균인 *E. tarda*, *V. ichthyoenteri*와 양성균인 *S. iniae* 모두에서 강한 항균 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 봉독은 *E. tarda*와 *V. ichthyoenteri*에 대하여 최소발육저지농도는 각각 17.6 µg/ml, 1.76 µg/ml였으며, 최소살균농도는 34.6 µg/ml, 6.8 µg/ml, 항균력 지속시간은 5시간, 6시간으로 측정되었다. 또한 그람 양성균인 *S. iniae*에 대한 최소발육저지농도는 3.49 µg/ml, 최소살균농도는 11 µg/ml였으며, 항균력지속시간은 7시간으로 봉독은 매우 강한 증식 및 살균 억제력을 보였다. 뿐만 아니라, 다양한 pH 조건하에서도 항균활성이 유지되는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업 (과제번호: PJ0081302011)에 의하여 수행되었습니다. 아울러, 어류 병원체를 분양해주신 국립수산물과학원 김명석 박사님께 감사드립니다.

참고문헌

- Abbadie, C., and Besson, J. M.: Chronic treatments with aspirin or acetaminophen reduce both the development of polyarthritis and Fos-like immunoreactivity in rat lumbar spinal cord. *Pain*, 57: 45-54, 1994.
- Chang, H.S., Jeong, H.C., Hyeon, J.Y., Hwang, I.J., Kwak, H.S., Yoon, H.S., Lee, J.S., Chung, Y.H., Song, K.Y., and Seo, K.H.: Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from raw fishes. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.*, 34(3): 197-202, 2010.
- Cho, M.Y., Kim, M.S., Kwon, M.G., Jee, B.Y., Choi, H.S., Choi, D.L., Park, G.H., Lee, C.H., Kim, J.D., Lee, J.S., Oh, Y.K., Lee, D.C., Park, S.H. and Park, M.A.: Epidemiological study of bacterial diseases of cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* from 2005 to 2006 in Korea. *J. Fish pathol.*, 20(1): 61-70, 2007.
- Choi, M.S., Choi, S.H., Park, K.H., Jang, S.I., Yoon, C.Y., Cho, J.G. and Song, H.J.: Survey of drug resistance in *Edwardsiella tarda* isolated from diseased eels (*Anguilla japonica*). *J. Fish pathol.*, 9(2): 195-201, 1996.
- Curcio-Vonlanthen, V., Schneider, C.H., Frutig, K., Blaser, K., and Kalbacher, H.: Molecular parameters in melittin immunogenicity. *J. Pept. Sci.*, 3(4): 267-276, 1997.
- Habermann, E., and Reiz, K.G.: On the biochemistry of bee venom peptides, melittin and apamin. *Biochem. Z.*, 343(2): 192-203, 1965.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Hwang, S.J., Jang, C.H., Chenoweth, P.J., and Pak, S.C.: Effects of bee venom treatment on growth performance of young pigs. *Am. J. Chin. Med.*, 37(2): 253-260, 2009a.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Hwang, S.J., Chenoweth, P.J., and Pak, S.C.: Somatic cell count in milk of bee venom treated dairy cows with mastitis. *J. ApiProduct. ApiMed. Sci.*, 1(3): 104-109, 2009b.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., OH, B.Y., Kim, B.S., Lee, W., Baek, H.J., Kim, S.T., Hwang, S.J., and Pak, S.C.: Effects of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. *Poult. Sci.*, 89(11): 2396-2400, 2010a.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Baek, H.J., and Park, K.K. Antibacterial and anti-inflammatory effects of honeybee(*Apis mellifera*) venom against acne-inducing bacteria. *J. Med. Plant. Res.*, 4(6): 459-464, 2010b.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Kim, W.T., and Park, K.K. Biological effects of treatment of an animal skin wound with honeybee (*Apis mellifera*. L) venom. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.*, 64(3): 67-72, 2011.
- Jung, S.H., and Kim, J.W.: In vitro Antimicrobial activity in combination of antibacterials against fish-pathogenic bacteria. *J. Fish pathol.*, 13(1): 45-51, 2000.
- Kang, S.Y.: The antimicrobial compound of *Rhus verniciflua* barks against fish pathogenic gram-negative bacteria, *Edwardsiella tarda* and *Vivrio anguillarum*. *J. Fish pathol.*, 18(3): 227-237, 2005.
- Kim, M.S., Seo, J.S., Park, M.A., Cho, J.Y., Hwang, J.Y., Kwon, M.G. and Jung, S.H.: Antimicrobial

- resistance of *Edwardsiella tarda*, *Vibrio* spp., and *Streptococcus* spp. isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Fish pathol., 23(1): 37-45, 2010a.
- Kim, J.W., Cho, M.Y., Park, G.H., Won, K.M., Choi, H.S., Kim, M.S. and Park, M.A.: Statistical data on infectious diseases of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* from 2005 to 2007. J. Fish pathol., 23(3): 369-377, 2010b.
- Kim, S.S., Galaz, G.B., Lee, K.J., and Lee, Y.D.: Effects of Dietary Supplementation of *Spirulina* and Astaxanthin for Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* in Low Temperature Season. J. of Aquaculture., 19(1): 57-63, 2006.
- Kwon, Y.B., Yoon, S.Y., Kim, H.W., Roh, D.H., Kang, S.Y., Ryu, Y.H., Choi, S.M., Han, H.J., Lee, H.J., Kim, K.W., Beitz, A.J., and Lee, J.H.: Substantial role of locus coeruleus-noradrenergic activation and capsaicin-insensitive primary afferent fibers in bee venom's anti-inflammatory effect. Neurosci. Res., 55(2): 197-203, 2006.
- Lee, E.M., Choi, M.J., Lee, S.J., and Park, S.C.: Pharmacodynamics of florfenicol alone and in combination with amoxicillin or cefuroxime against pathogenic bacteria of fish origin. Korean J. Vet. Res., 50(4): 279-284, 2010a.
- Lee, J.D., Choi, Y.H., and Kim, G.Y.: Bee venom and melittin reduce proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. Int. Immunopharmacol., 7(8): 1092-1010, 2007.
- Lee, N.S., Jeong, S.H., and Jee, B.Y.: Anti-fish pathogenic efficacy of hot water extracts obtained from 5 herbs in-vitro, and efficacy and toxicity in flounder of the one selected herb, skullcap. J. Fish pathol., 23(1): 137-143, 2010b.
- Matthew, E., and Levison, M.D.: Pharmacodynamics of antimicrobial drugs. Infect. Dis. Clin. N. Am., 18: 451-465, 2004.
- Moon, D.O., Park, S.Y., Lee, K.J., Heo, M.S., Kim, K.C., Kim, M.O., Rudenko, S.V., and Nipot, E.E.: Modulation of melittin-induced hemolysis of erythrocytes. Biokhimiia., 61(12): 2116-2124, 1996.
- Seo, J.Y., Kim, K.D., and Lee, S.M.: Effects of Supplemental Herb Medicines in the Diets on Growth, Feed Utilization and Body Composition of Juvenile and Grower Rockfish *Sebastes schlegeli*. A. Aquaculture., 22(1): 112-117, 2009.
- Vick, J.A., and Shipman, W.H.: Effects of whole bee venom and its fractions (apamin and melittin) on plasma cortisol levels in the dog. Toxicol., 10(4): 377-380, 1972.
- Wu, M. and Hancock, R.E.: Interaction of the cyclic antimicrobial cationic peptide bactenecin with the outer and cytoplasmic membrane. J. Biol. Chem., 274: 29-35, 1999.
- Yoon, S.Y., Roh, D.H., Kwon, Y.B., Kim, H.W., Seo, H.S., Han, H.J., Lee, H.J., Beitz, A.J., and Lee, J.H.: Acupoint stimulation with diluted bee venom (apipuncture) potentiates the analgesic effect of intrathecal clonidine in the rodent formalin test and in a neuropathic pain model. J. Pain., 10(3): 253-263, 2009.
- 김문호. 봉독요법과 봉침요법, 한국교육기획, 서울, pp. 67-141, 1992.
- 성창현, 천정환, 현지연, 황인균, 곽효선, 윤상현, 이정수,

정윤희, 송광영, 서건호: 시판 횡감어류에서의 *Vibrio parahaemolyticus* 분포 및 항생제 감수성에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지, 34: 197-202, 2010.

전봉근, 김만철, 김영후, 허문수: 한약재 추출물에 배양된 유산균 배양액이 양식어류의 사료첨가제로서 성장과 비 특이적 면역에 미치는 영향 생명과학회지, 19: 87-93, 2009.

한상미, 이광길, 여주홍, 권해용, 이인경, 이명렬, 이만영, 백하주, 배기환: 전기충격법으로 채취한 국내 산 봉독의 항균효과 (I). 한국양봉학회지, 20: 53-58, 2005.

Manuscript Received : May 31, 2011

Revised : July 6, 2011

Accepted : July 6, 2011