

흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*) 사료 내 Myo-inositol 요구량

임종호 · 이경준^{1*}

제주대학교 해양생명과학과, ¹제주대학교 해양과학연구소

Dietary Myo-inositol Requirements of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*

Jongho Lim and Kyeong-Jun Lee^{1*}

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

¹Marine Science Institute, Jeju National University, Jeju 63333, Republic of Korea

We aimed to determine the dietary myo-inositol (MI) requirements of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. A basal diet was formulated without myo-inositol (M0) and a negative control diet (M0-) was prepared by adding tetracycline hydrochloride to the basal diet to prevent intestinal inositol synthesis. Five MI diets were prepared by adding MI at 300, 600, 900, 1,200 and 1,500 mg/kg to the basal diet (designated as, M300, M600, M900, M1200 and M1500, respectively). Triplicate groups of shrimp (initial body weight, 0.55±0.01 g) were fed one of the experimental diets for 42 days. The growth performance of shrimp in M0- group was significantly lower when compared to that of shrimp in M0, M1200 and M1500 groups. Feed efficiency was significantly improved in M1200 and M1500 groups when compared to the M0 and M0- groups. GPx activity was significantly higher in M1200 and M1500 groups compared to that in M0 and M0- groups. Therefore, a practical diet (over 240 mg/kg) meets the minimum MI requirements of Pacific white shrimp. However, the optimum dietary MI level would be potentially above 1,200 mg/kg for better feed utilization efficiency and antioxidant capacity of Pacific white shrimp.

Keywords: Myo-inositol, Practical diet, Tetracycline hydrochloride, Intestinal synthesis, Pacific white shrimp

서론

Myo-inositol (MI)은 자연계에 존재하는 inositol의 9가지 이성질체 중 가장 높은 생리활성을 가지며(Shirmohammad et al., 2016), phosphatidylinositol (PI)의 형태로 존재하면서 주로 세포막의 구성성분으로 이용되거나(Combs, 1992; Shiau and Su, 2004), 지질의 대사에 관여하는 것으로 보고되었다(Wen et al., 2007). MI는 어류의 간에서 합성되는 것으로 알려져 있으며(Burtle and Lovell, 1989), 장내 미생물에 의해 합성되기도 한다(Farrag et al., 2008). Sunshine bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂), 얼룩메기(*Ictalurus punctatus*) 및 전복(*Haliotis discus hannai*) 같은 일부 종에서는 장내 합성만으로 충분하기 때문에 사료에 MI를 별도로 첨가할 필요가 없다고 보

고되었다(Burtle and Lovell, 1989; Mai et al., 2001; Deng et al., 2002). 그러나 치어기 어류는 MI 요구량이 성어기 어류보다 높아, 장내 합성만으로는 요구량을 충족시키지 못하기 때문에 사료를 통해 충분한 양의 MI를 공급받아야만 한다(Peres et al., 2004). 어종에 따른 사료 내 MI 요구량은 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*) (Khosravi et al., 2015)에서 94.3 mg/kg, 틸라피아(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (Shiau and Su, 2005)에서 400 mg/kg, 잉어(*Cyprinus carpio* var. Jian) (Jiang et al., 2009)에서 518 mg/kg, barramundi *Lates calcarifer*에서 507 mg/kg (Diao et al., 2010), 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서 617 mg/kg (Lee et al., 2009), 흰다리새우(*Penaeus monodon*)에서 3,400 mg/kg (Shiau and Su, 2004)으로 보고되었다. 어류에서 MI가 결핍되면 성장 감소, 식욕 부진, 부종, 피부 변색, 위 팽창,

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

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



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0960>

Korean J Fish Aquat Sci 55(6), 960-966, December 2022

Received 22 August 2022; Revised 1 October 2022; Accepted 9 November 2022

저자 직위: 임종호(대학원생), 이경준(교수)

간 지질 축적, 근육 퇴화 및 인지질 함량의 감소가 일어난다고 보고되었다(Deshimaru and Kuroki, 1976; NRC, 2011).

흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)는 성장이 빠르고 다른 새우에 비해 환경에 대한 내성이 강하기 때문에 전세계적으로 가장 많이 양식되고 있다. 흰다리새우는 전세계에서 연간 490 만톤(FAO, 2020)이 생산되며, 국내 생산량은 2020년 5,500톤(KOSIS, 2022)으로 계속해서 증가할 것으로 예측된다. 흰다리새우의 사료 내 비타민 요구량에 대한 연구는 매우 제한적이다. 사료 내 MI 요구량은 일부 어류를 대상으로 연구되었지만 새우를 대상으로는 홍다리얼룩새우와 흰다리새우에서만 수행되었다(Shiau and Su, 2004; Chen et al., 2018). 흰다리새우에서는 사료 내 MI 함량이 450 ppm 이상이면 성장과 사료효율 및 생존률에 영향을 주지 않았으나(Chen et al., 2018), 정확한 요구량과 장내 합성을 통한 요구량의 충족여부는 아직 연구되지 않았다. 본 연구는 사료 내 MI의 함량이 흰다리새우의 성장, 비특이적 면역력, 혈액학적 지표에 미치는 영향과 장내 합성에 의한 MI의 요구량 충족 여부를 평가하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

실험사료

대조구 사료(M0)는 MI를 첨가하지 않았으며, 음성 대조구 사료(M0-)는 M0에 항생제인 tetracycline hydrochloride를 0.4% 첨가하여 MI의 장내 합성을 방지하도록 설계되었다. 다른 5개의 실험사료에는 MI를 300, 600, 900, 1,200 그리고 1,500 mg/kg 함량으로 사료에 첨가하였다(M300, M600, M900, M1200, M1500). 실험사료는 원료를 혼합한 후, 대구간유(cod liver oil)와 증류수(15%)를 첨가한 후, 펠렛성형기(SP-50; KumKang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 2 mm 크기로 성형하였다. 제작된 실험사료는 건조(25°C, 8 h) 후, 사료공급 전까지 냉장보관(4°C)하였다. 분석된 사료 내 MI 함량은 241 (M0), 255 (M0-), 545 (M300), 913 (M600), 1,103 (M900), 1,208 (M1200), 1,578 (M1500) mg/kg으로 나타났다. 실험사료의 조성, 일반성분, MI 함량은 Table 1에 나타내었다.

실험새우와 사육관리

사육실험 전, 실험새우는 6주 동안 상업사료(CJ Cheiljedang, Seoul, Korea)를 공급하며 실험환경에 순치되었다. 사육실험을 위해 순치된 새우(초기평균무게, 0.55±0.01 g)는 총 21개의 acrylic 수조(240 L)에 수조 당 30마리씩 3반복으로 배치되었다. 사육실험은 총 42일간 진행되었다. 사육수는 자연해수를 모래여과하여 사용하였고, 수조 내 용존산소(dissolved oxygen, DO)는 공기발생기(aeration)를 사용하여 충분히 유지되었다. 실험사료는 1일 6회(08:30, 10:30, 12:30, 14:30, 16:30, 18:30 h)에 걸쳐 제한공급(새우 체중의 3-12%) 하였다. 각 수조의 수온, DO, 염분(salinity)은 1일 1회 측정되었으며, pH

와 암모니아 농도는 매주 1회 분석하였다. DO는 Pro20 Dissolved Oxygen Instrument (YSI, Yellow Springs, OH, USA), pH는 Seven Compact (METTLER TOLEDO, Columbus, OH, USA) 기기를 사용하여 측정하였다. 암모니아 농도는 Verdouw et al. (1978)의 방법을 사용하였고, 염분은 Master Refractometer-S28M (ATAGO, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였다. 사육실험 기간 모든 실험수조의 DO는 6.84±0.14 ppm, pH는 7.45±0.18, 암모니아 농도는 0.14±0.03 ppm, 수온은 29.4±0.24°C, 염분은 35.2±1.14 psu로 유지되었다.

Sampling과 분석

42일간의 사육실험 후, 수조마다 새우의 개별 무게(final body weight, FBW)를 측정하여 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료효율(feed conversion ratio, FCR), 단백질 이용효율(protein efficiency ratio, PER), 생존율(survival)을 계산하였다. 최종무게 측정 후, 수조 당 3마리(실험구 당 9마리)의 새우를 무작위로 선별하여 얼음물에 마취시킨 후, Alsever's solution (Sigma, St. Louis, MO, USA)이 처리된 주사기를 이용하여 hemolymph를 채취하고 간췌장(hepatopancreas)을 적출하였다. 채혈된 hemolymph는 원심분리기로(800 g, 20 min, 4°C) 혈장을 분리하였다. 분리된 hemolymph와 간췌장은 분석에 사용되기 전까지 냉동(-80°C)보관 되었다. Phenoloxidase (PO) 활성은 Hernández-López et al. (1996)의 방법을, Nitro-blue tetrazolium (NBT) 활성은 Zhang et al. (2013)의 방법을, lysozyme 활성은 Paglia and Valentine (1967)의 방법을, anti-protease 활성은 Ellis et al. (1990)을 따라 분석하였다. Glutathione peroxidase (GPx) 활성은 GPx 분석 키트(K762-100; Biovision, Milpitas, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 혈액학적 지표로는 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total protein을 분석하였다. AST, ALT, total protein은 시판 Kit를 이용하여 혈액생화학분석기(CH 100^{plus}; RADIM company, Firenze, Italy)를 통해 분석되었다.

전어체 분석은 수조 당 3마리(실험구 당 9마리)의 새우를 사용하였으며, 분석 전까지 -20°C에 보관하였다. AOAC (2005) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 h), 조회분은 직접회화법(550°C, 4 h), 단백질은 자동조단백질분석기(Kjeltec system 2300; FOSS analytical, Hillerød, Denmark)로 분석되었고, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 분석하였다.

Myo-inositol 함량 분석

실험사료와 간췌장의 MI 농도는 Ashizawa et al. (2000)의 방법에 따라 분석되었다. 실험사료와 간췌장에서 MI를 perchloric acid (16%, w/v)로 추출한 후 원심분리(5,000 g, 4°C, 10 min)하였다. 상층액을 2.0 M K₂CO₃와 혼합한 후 다시 원심분리(5000 g, 4°C, 10 min)하였다. 상층액 100 µL에 10 µL hexokinase reagent (200 mM Tris-HCL buffer, 400 mM adenosine triphosphate disodium, pH 8.6, 115 U/mL hexokinase)를 첨가하였다.

혼합물은 37°C에서 90분 동안 배양되었고 100°C에서 3분 동안 가열하여 반응을 정지시킨 뒤 4.5 M HCL 20 µL를 첨가하였다. 25°C에서 10분간 방치 후, 3.0 M K₂CO₃ 22 µL를 첨가하였다. 96 well plate에 시료 추출물 100 µL와 100 µL MI reagent (210 mM triethanolamine hydrochloride, 32 mM K₂PO₄-KOH buffer (pH 8.6), 1.2% (v/v) Triton X-100, 10 mM β-NAD, 1.0 U/mL diaphorase, 0.1% (w/v) bovine serum albumin, 60 µg/mL INT)를 혼합하였다. Microplate reader (model Multiskan EX, Thermo Electron, USA)를 이용하여 흡광도(492 nm)를 측정하였다. 그 후 20 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 첨가한 뒤 실온에서 30분간 방치한 뒤 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. MI 함량 흡광도 증가량으로 계산되었다.

통계학적 분석

사육실험을 위해 완전확률계획법(completely randomized design)으로 실험사료를 배치하였고 모든결과는 SPSS (Version 24.0, International Business Machines Co., New York, NY, USA) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계분석되었다. 데이터값의 유의차는 Tuckey's HSD (P<0.05)로 비교하였다. 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 통계분석 하였으며, 모든 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다.

결 과

새우의 성장률(FBW, WG, SGR)에서는 대조구와 모든 MI 실

Table 1. Dietary formulation of the experimental diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% dry matter)

Ingredients (%)	Experimental diets						
	M0	M0-	M300	M600	M900	M1200	M1500
Fish meal, sardine ¹	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Fish meal, tuna ²	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Soybean meal	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Squid liver meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat meal	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
Wheat gluten	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Poultry by product meal	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Starch	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Cod liver oil ³	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Mineral mixture ⁴	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin premix ⁵	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cholesterol	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Lecithin ⁶	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Monocalcium phosphate	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Myo-inositol	0.00	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.16
Tetracycline hydrochloride	0.00	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
α-cellulose	0.80	0.40	0.77	0.74	0.71	0.68	0.64
Proximate composition (%)							
Moisture	7.50	9.01	7.70	8.91	7.49	8.71	7.86
Crude protein	34.2	34.1	35.5	34.9	35.6	35.2	35.0
Crude lipid	8.54	8.89	8.75	8.29	7.98	8.45	8.67
Crude ash	9.92	9.83	9.96	9.69	10.5	10.4	10.4
Myo-inositol content (mg/kg)	241	255	545	913	1103	1208	1578

¹Orizon S.A, Chile. ²Woogin Feed Industry Co. Ltd., Incheon, Korea. ³E-wa oil & fat Industry Corp., Busan, Korea. ⁴Mineral mixture (g/kg, mixture): MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0. ⁵Vitamin mixture contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg, mixture): L-ascorbic acid, 100; DL-α tocopheryl acetate, 20; thiamin hydrochloride, 8.9; riboflavin, 6.9; pyridoxine hydrochloride, 7.2; niacin, 18; ; D-biotin, 0.9; folic acid, 7.2; menadione, 0.9; retinyl acetate, 0.58; cholecalciferol, 0.36; cyanocobalamin, 0.09. ⁶Lysoforte™ Dry, Kemin Korea Co. Ltd., Seongnam, Korea.

Table 2. Growth performance, feed utilization and survival of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 42 days

Treatments	FBW ¹ (g)	WG ² (%)	SGR ³ (%)	FCR ⁴	PER ⁵	Survival (%)
M0	7.09±0.16 ^{ab}	1188±29.4 ^{ab}	6.08±0.04 ^{ab}	1.49±0.03 ^a	1.93±0.04 ^c	98.9±1.92
M0-	6.58±0.09 ^c	1097±16.9 ^c	5.91±0.02 ^c	1.51±0.07 ^a	1.96±0.09 ^{bc}	100±0.00
M300	6.69±0.13 ^{bc}	1116±23.3 ^{bc}	5.95±0.04 ^{bc}	1.43±0.11 ^{ab}	2.01±0.13 ^{abc}	98.9±1.57
M600	6.75±0.05 ^{bc}	1128±9.02 ^{bc}	5.97±0.04 ^{bc}	1.34±0.05 ^b	2.20±0.10 ^{ab}	100±0.00
M900	6.96±0.25 ^{abc}	1165±44.7 ^{abc}	6.04±0.08 ^{abc}	1.32±0.06 ^b	2.18±0.06 ^{abc}	100±0.00
M1200	7.07±0.13 ^{ab}	1185±23.0 ^{ab}	6.08±0.08 ^{ab}	1.31±0.06 ^b	2.22±0.05 ^a	98.9±1.63
M1500	7.29±0.25 ^a	1226±45.2 ^a	6.15±0.05 ^a	1.32±0.03 ^b	2.24±0.11 ^a	96.6±0.05

¹Final body weight (g). ²Weight gain (%)=[(final body weight-initial body weight)/initial body weight]×100. ³Specific growth rate (%)=[(log_e final body weight - log_e initial body weight)/days]×100. ⁴Feed conversion ratio=dry feed fed/wet weight gain. ⁵Protein efficiency ratio=wet weight gain (g)/total protein given (g). Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

Table 3. Hepatopancreas myo-inositol concentrations (mg/kg, wet basis) and proximate composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 42 days (% wet basis)

Treatments	Hepatopancreas	Crude protein	Crude lipid	Crude ash
M0	37±8.00	21.5±0.91	1.34±0.16	1.48±0.06
M0-	34±5.23	20.8±0.85	1.32±0.09	1.63±0.04
M300	40±4.47	21.0±1.52	1.35±0.07	1.54±0.08
M600	47±4.20	20.6±0.87	1.38±0.05	1.51±0.10
M900	50±4.01	21.7±1.21	1.25±0.12	1.59±0.21
M1200	56±3.12	20.9±1.91	1.42±0.28	1.47±0.12
M1500	58±6.01	20.8±0.21	1.36±0.09	1.53±0.09

Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

험구 간에 유의적인 차이가 없었지만(P>0.05, Table 2), 항생제를 첨가한 M0-는 M0, M1200, M1500에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다(P<0.05). FCR은 MI 첨가구인 M600, M900, M1200, M1500구가 무첨가 대조구들에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다(P<0.05). PER은 M1200, M1500구에서 무첨가 대조구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 생존율(survival)은 모든 실험구간에 유의적인 차이가 없었다(P>0.05).

새우 전어체의 조단백, 조지질, 조회분 분석결과, 실험구간에 유의적인 차이는 없었다(P>0.05, Table 3). 간체장 내 MI 함량은 유의적인 차이는 없었으나, 사료 내 MI 함량이 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었다(P>0.05, Table 3). 비특이적 면역력, 항산화력, 혈액학적 지표 분석 결과는 Table 4에 나타내었다. PO, NBT, lysozyme, anti-protease 활성은 모든 실험구 사이에 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). GPx 활성은 M1200, M1500구가 모든 대조구(M0, M0-)보다 유의적으로 높았다(P<0.05). AST, ALT, total protein 함량은 모든 실험구간에 유

Table 4. Innate immune responses and hematological parameters of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 42 days

Treatments	PO ¹	NBT ²	Lysozyme ³ (µg/mL)	Anti-protease ⁴	GPx ⁵ (mU/mL)	AST ⁶ (U/L)	ALT ⁷ (U/L)	Total protein ⁸ (g/dL)
M0	0.085±0.01	0.762±0.35	2.74±1.03	9.00±0.99	66.2±7.06 ^b	28.7±10.1	41.8±13.0	5.4±0.42
M0-	0.081±0.01	0.416±0.18	2.79±1.06	9.90±0.30	58.1±7.57 ^b	31.8±11.7	49.3±9.90	5.5±0.59
M300	0.075±0.01	0.619±0.19	2.34±1.06	11.5±0.59	63.4±3.30 ^b	31.7±4.10	42.4±6.00	5.6±0.39
M600	0.084±0.01	0.609±0.24	3.06±1.73	11.3±0.80	68.8±4.09 ^{ab}	33.7±13.8	46.2±7.90	5.7±0.42
M900	0.088±0.01	0.666±0.16	3.33±1.45	11.5±0.22	79.1±13.9 ^{ab}	37.2±3.20	42.7±5.80	5.5±0.14
M1200	0.090±0.01	0.641±0.28	3.08±1.51	11.8±0.55	88.0±9.16 ^a	34.0±11.4	45.4±11.6	5.9±0.45
M1500	0.095±0.01	0.697±0.03	4.52±1.17	10.4±0.08	87.0±5.04 ^a	47.6±10.4	60.0±17.2	6.2±0.76

¹Phenoloxidase activity (absorbance). ²Nitro-blue tetrazolium activity (absorbance). ³Lysozyme (µg/mL). ⁴Anti-protease (% inhibition). ⁵Glutathione peroxidase (mU/mL). ⁶Aspartate aminotransferase (U/L). ⁷Alanine aminotransferase (U/L). ⁸Total protein (g/dL). Values are mean of triplicate groups and presented as mean ± S.D. Different superscripts in each column indicate significant differences (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

의적인 차이가 없었으나($P>0.05$), M1500구에서 높아지는 경향을 나타내었다($P<0.05$).

고 찰

본 연구에서 모든 실험구의 새우는 사육실험 첫 날부터 실험 사료를 매우 잘 섭취하였고, 42일간의 사육기간 동안 매우 높은 성장률을 보임으로써, 실용(practical) 실험사료에 의한 사육실험이 잘 수행되었던 것으로 사료된다. Chen et al. (2018)은 흰다리새우를 대상으로 한 MI 요구량 실험에서 대조구의 SGR이 4.13%였으나 본 연구에서 대조구의 SGR은 6.08%로 더 높았다. 또한, Chen et al. (2018)의 대조구 사료 MI 함량은 449 ppm이었으나, 본 연구에서 M0의 MI 함량은 241 ppm으로 더 낮았다. MI는 세포막에서 PI의 구성물질로 존재하며 항산화효소 활성을 증진시킴으로써 숙주 동물의 세포를 스트레스로부터 보호한다고 알려졌다(Shirmohammad et al., 2016). Lee et al. (2009)은 MI의 사료 내 첨가가 인지질의 합성을 촉진시켜 넙치의 간내 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acid) 함량이 유의적으로 높아진다고 보고하였다. 하지만 Chen et al. (2018)은 흰다리새우의 성장, 사료효율, 생존율, 단백질이용효율이 사료 내 MI 함량에 영향을 받지 않는다고 보고하였다. 흥미롭게도 이번 연구에서도 흰다리새우의 성장률은 사료 내 MI의 첨가에 따른 유의적인 차이가 없었다. 그러나 흰다리새우에서 MI의 장내 합성을 제한한 M0-구는 M0구보다 유의적으로 성장률이 낮았다. 이는 흰다리새우의 장내 MI 합성이 항생제에 의해 영향을 받았으며, 한편으로 장에서 합성되는 MI 함량이 새우의 성장에 중요하게 작용할 수 있다는 것을 보여주는 유의미한 결과라고 판단된다. 흰다리새우 사료에 MI가 241 ppm 이상 함유되어 있을 경우 성장에는 문제가 없을 것으로 판단되며, 흰다리새우가 장내 합성을 통해 합성하는 정확한 MI의 양은 추가 연구를 통해 검증이 필요할 것으로 사료된다.

MI 대사가 진행되며 발생하는 PI는 간내 지질의 대사를 촉진시켜 체내 지질의 축적을 방지한다고 알려져있다(Lapetina et al., 1981; Halver, 1989). Shiau and Su (2004)는 홍다리얼룩새우 사료에 MI의 함량이 높으면 장내 MI 함량도 높아진다고 보고하였다. Chen et al. (2018)은 흰다리새우 사료에 MI 함량이 974 ppm일 경우 전어체의 조지질 함량이 다른 실험구에 비해 유의적으로 높다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 대조구와 실험구의 전어체 내 조지질 함량은 유의미한 차이가 없었다. 사료에 MI의 함량이 증가할 경우, 간체장 내 MI의 함량이 증가하는 경향을 확인하였다. 간체장 내의 MI 함량은 사료 내 MI의 첨가에 영향을 받는 것으로 사료된다. Shiau and Su (2004)는 홍다리얼룩새우 사료의 MI 함량이 높아질수록 장내 MI의 함량이 증가하고 반대로 지질함량은 감소하였다고 보고하였다. 티라피아(Shiau and Su, 2005), 넙치(Lee et al., 2009), 돌돔(Khosravi et al., 2015)에서도 사료의 MI 함량이 높아질수록 간내 MI 함량이 증가하고 반대로 지질의 함량은 감소하

였다고 보고되었다. PI는 세포 신호 전달에 관여하는 phosphatidylcholine의 함량에도 영향을 준다고 보고되었다(Mathews and Van Holde, 1990). PI는 세포 반응에서 신경전달 역할과 다양한 단백질과의 상호작용을 통한 효소활성 조절 역할을 한다(Chang et al., 2001). Khosravi et al. (2015)은 MI가 돌돔의 간에서 지질의 low density lipoprotein으로의 전환을 촉진하여 혈장 콜레스테롤의 함량은 높이지만 반대로 지질의 함량은 감소시킨다고 보고하였다. 따라서 MI의 결핍에 따른 체내 지질축적을 막기 위해서는 적정량의 MI를 섭취해야 한다고 보고되었다(Shirmohammad et al., 2016). 본 연구는 전어체 일반성분이 모든 실험구 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았기 때문에 결핍 증은 나타나지 않은 것으로 판단된다. 하지만 MI가 241 ppm보다 저농도인 사료에 대한 평가와 결핍증이 발생하는 정확한 농도는 추가 연구를 통해 검증해야 할 것으로 사료된다.

이번 연구에서 PO, NBT, lysozyme, anti-protease 활성은 모든 실험구 사이에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 사료의 MI 함량은 jian carp의 항산화효소 활성을 향상시킨다고 보고되었다(Jiang et al., 2010). Chen et al. (2018)은 사료의 MI의 증가가 흰다리새우에서 항산화효소 활성을 높였으며, hemolymph 내 AST, ALT, total protein 함량도 향상시켰다고 보고하였다. 본 연구에서도 GPx 활성이 MI 무첨가구보다 고첨가구(M1200, M1500)에서 유의적으로 높았으며, AST, ALT, total protein의 함량은 M1500구에서 증가하는 값을 나타내었다. Jiang et al. (2013)은 사료 내 MI의 첨가에 의해 잉어의 catalase와 GPx의 활성이 증가했다고 보고하였다. 본 연구에서는 사료의 MI 함량이 241–1,578 ppm일 경우 비특이적 면역력에서 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 사료 내 MI 함량이 1,200 ppm 이상일 경우 항산화효소 활성을 유의적으로 향상시키는 것으로 판단된다.

Choline은 phosphatidylcholine의 구성물질로써 이노시톨과 같이 어류 체내에서 지질대사에 관여하며 서로 상호작용하기 때문에 각 요구량에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다(Michael and Koshio, 2008). 단백질 원료의 MI와 choline의 함량은 대두박(soybean meal)에서 425 ppm, 2,500 ppm, 어분(fish meal)은 원료로 사용된 어종에 따라 약 100–700 ppm, 3,000–5,000 ppm, 오징어간분(squid liver meal)은 300 ppm, 2,500 ppm, 콘글루텐밀(corn gluten meal)은 489 ppm, 350 ppm, 대두농축단백(soy protein concentrate)은 500–600 ppm, 2,500 ppm을 각각 함유하고 있다(FICD, 2022). 일반적인 실용새우 사료는 어분, 오징어간분, 대두박을 단백질원으로 사용하며, 특히 MI의 함량이 높은 대두박을 다량 사용한다(Sookying et al., 2013). 일부 어종은 장내 합성만으로는 요구량을 충족하지 못하지만 MI는 다양한 원료에 함유되어 있기 때문에 실용사료를 공급한 어류는 MI 요구량을 대부분 충족할 수 있다고 보고되었다(Waagbø et al., 1998; Peres et al., 2004). 본 연구에서는 사료 단백질 원료의 MI가 성장에 필요한 요구량을 충족하여

대조구와 실험구간에 성장과 생존율에서 유의미한 차이가 나타나지 않은 것으로 판단된다.

결론적으로, 흰다리새우는 장내 합성을 통해 MI를 어느정도 합성하는 것으로 판단된다. 흰다리새우의 실용사료 내 단백질 원료에는 MI가 다량으로 존재하기 때문에 추가적인 첨가 없이도 요구량을 충족할 수 있어 새우의 성장, 비특이적 면역력 및 전어체 일반성분의 조성에 아무런 문제가 없을 것으로 판단된다. 하지만, FCR의 개선과 항산화효소 활성 향상을 위해서는 흰다리새우 사료 내 MI의 함량이 약 1,200 mg/kg 이상 요구된다.

사 사

이 논문은 2021년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (2021R1A2C2008384).

References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, U.S.A. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Ashizawa N, Yoshida M and Aotsuka T. 2000. An enzymatic assay for myo-inositol in tissue samples. *J Biochem Biophys Methods* 44, 89-94. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)00069-5).
- Burtle GJ and Lovell RT. 1989. Lack of response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to dietary myo-inositol. *Can J Fish Aquat Sci* 46, 218-222. <https://doi.org/10.1139/f89-030>.
- Combs GF. 1992. Quasi-vitamins. In: *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. Combs GF, ed. Academic Press, San Diego, CA, U.S.A., 411-419.
- Chang TT, Rosania GR and Chung SK. 2001. Inositol phospholipid pathway inhibitors and regulators. *Expert Opin Ther Pat* 11, 45-59. <https://doi.org/10.1517/13543776.11.1.45>.
- Chen SJ, Guo YC, Espe M, Yang F, Fang WP, Wan MG, Niu J, Liu YJ and Tian LX. 2018. Growth performance, haematological parameters, antioxidant status and salinity stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed different levels of dietary myo-inositol. *Aquac Nutr* 24, 1527-1539. <https://doi.org/10.1111/anu.12690>.
- Diao SQ, Huang Z, Chen SS, Niu J, Li ZJ, Ding X and Lin HZ. 2010. Effect of dietary inositol on growth, feed utilization and blood biochemical parameters for juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch). *Am J Agric Biol Sci* 5, 370-375. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2010.370.375>.
- Deshimaru O and Kuroki K. 1976. Studies on a purified diet for prawn. VII. Adequate dietary levels of ascorbic acid and inositol. *Bull Jap Soc Sci Fish* 42, 571-576. <https://doi.org/10.2331/suisan.42.571>.
- Deng DF, Hemre GI and Wilson RP. 2002. Juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* ♀×*M. saxatilis* male ♂) do not require dietary myo-inositol. *Aquaculture* 213, 387-393. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00119-9).
- Ellis AE. 1990. Serum antiprotease in fish. In: *Techniques in Fish Immunology*. JS Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS and Van Muiswinkel WB, eds. SOS Publication, Fair Haven, CT, U.S.A., 95-99.
- Farrag FH, Khalil FFM., Helal AM and Rafeay MMA. 2008. Studies on the feasibility of florida hybrid red tilapia culture in different water salinities and fed on myo-inositol vitamin component. *J Agric Sci Mansoura Univ* 33, 7173-7183.
- FICD (Feed ingredient composition database). 2022. International Aquaculture Feed Formulation Database. Retrieved from <https://app.iaffd.com/ficd> on Oct 19, 2022.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2020. *Statics for Fisheries and Aquaculture in the World*. Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/en> on Oct 19, 2022.
- Folch J, Lees 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.
- Halver JE. 1989. The Vitamins. In: *Fish Nutrition*, 2nd edn. Halver JE, ed. Academic Press, San Diego, CA, U.S.A., 31-109.
- Hernández-López J, Gollas-Galván T and Vargas-Alboreo F. 1996. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 113, 61-66. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02033-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02033-0).
- Jiang WD, Feng L, Liu Y, Jiang J and Zhou XQ. 2009. Growth, digestive capacity and intestinal microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary inositol. *Aquac Res* 40, 955-962. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02191.x>.
- Jiang WD, Feng L, Liu Y, Jiang J, Hu K, Li SH and Zhou XQ. 2010. Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of myo-inositol. *Food Chem* 120, 692-697. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.062>.
- Jiang WD, Kuang SY, Liu Y, Jiang J, Hu K, Li SH, Tang L, Feng L and Zhou XQ. 2013. Effects of myo-inositol on proliferation, differentiation, oxidativestatus and antioxidant capacity of carp enterocytes in primary culture. *Aquac Nutr* 19, 45-53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00934.x>.
- Khosravi S, Lim SJ, Rahimnejad S, Kim SS, Lee BJ, Kim KW, Han HS and Lee KJ. 2015. Dietary myo-inositol requirement of parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture* 436, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.034>.
- KOSIS (Korea Statistical Information Service). 2022. Survey on the Status of Fish Culture. Retrieved from <http://kosis.kr/search/search.do?query=%EC%96%B4%EB%A5%98%E>

- C%96%91%EC%8B%9D on Jul 5, 2022.
- Lapetina EG, Billah MM and Cuatrecasas P. 1981. The phosphatidylinositol cycle and the regulation of arachidonic acid production. *Nature* 292, 367-369. <https://doi.org/10.1038/292367a0>.
- Lee BJ, Lee KJ, Lim SJ and Lee SM. 2009. Dietary myo-inositol requirement for olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch et Schlegel). *Aquac Res* 40, 83-90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02067.x>.
- Mai K, Wu G and Zhu W. 2001. Abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, can synthesize myo inositol de novo to meet physiological needs. *J Nutr* 131, 2898-2903. <https://doi.org/10.1093/jn/131.11.2898>.
- Mathews CK and Van Holde KE. 1990. *Biochemistry*. Benjamin/Cummings Publishing Co., Redwood City, CA, U.S.A., 1-1129.
- Michael FR and Koshio S. 2008. Biochemical studies on the interactive effects of dietary choline and inositol in juvenile Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate *Aquac* 285, 179-183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.006>.
- NRC (National Research Council). 2011. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academies Press, Washington D.C., U.S.A.
- Paglia DE and Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70, 158-169. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0022214367900765>.
- Peres H, Lim C and Klesius PH. 2004. Growth, chemical composition and resistance to *Streptococcus iniae* challenge of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of dietary inositol. *Aquaculture* 235, 423-432. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.021>.
- Shiau SY and Su SL. 2004. Dietary inositol requirement for juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 241, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.013>.
- Shiau SY and Su SL 2005. Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) requires dietary myo-inositol for maximal growth. *Aquaculture* 243, 273-277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.002>.
- Shirmohammad F, Mehri M and Joezy-Shekalgorabi S. 2016. A review on the role of inositol in aquaculture. *Iran J Fish Sci* 14, 1388-1409.
- Sookying D, Davis DA and Silva SD. 2013. A review of the development and application of soybean-based diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aqua Nutr* 19, 441-448. <https://doi.org/10.1111/anu.12050>.
- Verdouw H, Van Ecteld CJA and Dekkers EMJ. 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Res* 12, 399-402. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(78\)90107-0](https://doi.org/10.1016/0043-1354(78)90107-0).
- Waagbø R, Sandnes K, Lie O and Roem A. 1998. Effects of inositol supplementation on growth, chemical composition and blood chemistry in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fry. *Aquac Nutr* 4, 53-59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1998.00043.x>.
- Wen H, Zhao ZY, Jiang M, Liu AL, Wu F and Liu W. 2007. Dietary myo-inositol requirement for grass carp, *Ctenopharyngodon idella* fingerling. *J Fish Sci China* 14, 794-800.
- Zhang SP, Li JF, Wu XC, Zhong WJ, Xian JA, Liao SA and Wang AL. 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol* 34, 1131-1138. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>.