(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0050443
(43) 공개일자 2019년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 63/06 (2014.01) *A01K 61/10* (2017.01)
(52) CPC특허분류
A01K 63/06 (2018.05)
A01K 61/10 (2017.01)
(21) 출원번호 10-2017-0145847
(22) 출원일자 2017년11월03일
심사청구일자 없음
기술이전 희망 : 기술양도

전체 청구항 수 : 총 5 항

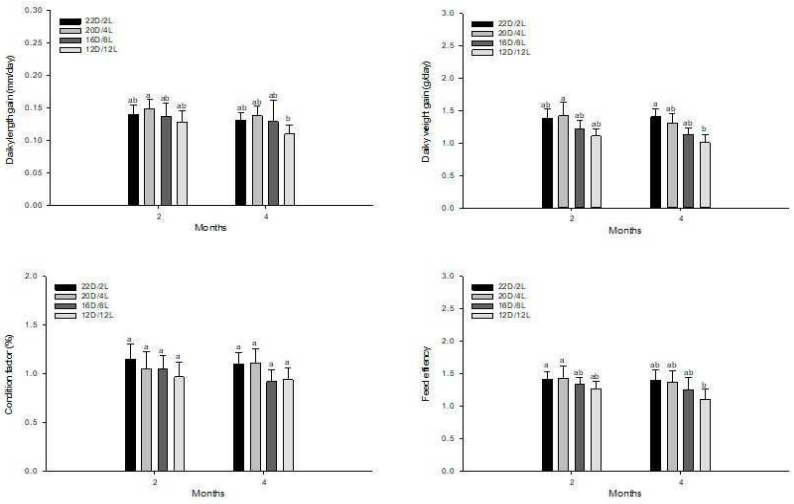
(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교)
(72) 발명자
강주찬
부산광역시 수영구 광안해변로 100, 213동 206호 (남천동, 비치아파트)
(74) 대리인
위병갑

(54) 발명의 명칭 **광주기 조절을 통한 은대구 치어의 사육 방법**

(57) 요 약

본 발명은 광주기 조절을 통한 은대구 치어의 사육 방법에 관한 것이다. 본 발명의 광주기 조절 하에서 은대구 치어를 사육 시 길이와 체중이 월등히 증가하고, 스트레스 호르몬 수치가 감소할 뿐 아니라 면역활성이 높아져 은대구 치어의 효율적인 사육을 위한 방법으로 제공될 수 있는 효과가 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
F21W 2131/308 (2013.01)
Y02P 60/64 (2015.11)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 20150385
부처명 해양수산부
연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원
연구사업명 수산실용화기술개발사업
연구과제명 은대구의 양식기술 개발
기 여 율 1/1
주관기관 부경대학교 산학협력단
연구기간 2015.06.01 ~ 2018.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

광주기 조절 하에서 사육되는 것을 특징으로 하는, 은대구 치어의 사육방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 광주기 조절은 2~8:16~22h(L:D)인 것을 특징으로 하는, 은대구 치어의 사육방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 광주기 조절을 위한 광원은 백열등, 형광등 또는 발광다이오드에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 은대구 치어의 사육방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항의 방법으로 사육된 은대구 치어.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 은대구 치어는 길이와 무게가 증가하고, SOD, CAT 및 코티솔 활성이 감소하는 것을 특징으로 하는, 은대구 치어.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 광주기 조절을 통한 은대구 치어의 사육 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 어류의 혈액학적 성상은 외부 환경적 변화에 따른 대사작용 및 건강상태를 확인하기 위한 지표로 많이 사용되고 있다(Kim and Kang, 2014). 그리고 생태 및 생리학적 반응으로 적혈구 세포, 호르몬, hematocrit, hemoglobin 농도, 백혈구 수와 같은 다양한 혈액성분의 변화가 일어난다(Zarejabad et al., 2010).

[0003] 한편, 은대구는 미국 및 캐나다에서 양식되고 있는 고부가가치를 지닌 한해성 어종으로, 높은 상품성을 지니고 있는 어종이다. 하지만, 우리나라에서는 현재까지 양식이 이루어지고 있지 않으며, 이로인해 고부가가치를 가진 은대구에 대한 연구가 많이 진행되어 있지 않은 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2012-0020254호

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제2016-0018195호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에 본 발명자들은 상기와 같은 문제를 해결하기 위하여 은대구 치어를 효율적으로 사육하는 방법에 대한 연구를 진행하던 중 광주기 조절을 통해 은대구의 사육 효율을 증진시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서, 본 발명은 광주기 조절 하에서 사육되는 것을 특징으로 하는, 은대구 치어의 사육방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기의 방법으로 사육된 은대구 치어를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 광주기 조절 하에서 사육되는 것을 특징으로 하는, 은대구 치어의 사육방법을 제공한다.

[0009] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 광주기 조절은 2~8:16~22h(L:D)일 수 있다.

[0010] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 광주기 조절을 위한 광원은 백열등, 형광등 또는 발광다이오드에서 선택될 수 있다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기의 방법으로 사육된 은대구 치어를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 은대구 치어는 길이와 무게가 증가하고, SOD, CAT 및 코티솔 활성이 감소할 수 있다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 광주기 조절 하에서 은대구 치어를 사육 시 길이와 체중이 월등히 증가하고, 스트레스 호르몬 수치가 감소할 뿐 아니라 면역활성이 높아져 은대구 치어의 효율적인 사육을 위한 방법으로 제공될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 다양한 광주기 처리 조건에 노출된 은대구 치어의 성장 정도를 2개월, 4개월에서 확인한 결과이다.

도 2는 다양한 광주기 처리 조건에 노출된 은대구 치어의 항산화 인자(SOD, CAT)의 변화를 2개월, 4개월에서 확인한 결과이다.

도 3은 다양한 광주기 처리 조건에 노출된 은대구 치어의 혈장 내 포도당과 코티솔의 변화를 2개월, 4개월에서 확인한 결과이다.

도 4는 다양한 광주기 처리 조건에 노출된 은대구 치어의 스트레스 반응 정도를 2개월, 4개월에서 확인한 결과이다.

도 5는 다양한 광주기 처리 조건에 노출된 은대구 치어의 혈액학적 지표(수치)를 2개월, 4개월에서 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0018] **<실시예 1>**

[0019] **광주기 변화에 따른 은대구 치어의 성장 및 면역반응의 영향 확인**

[0020] 사육 중인 은대구 치어(sablefish; Anoplopoma fimbia)는 미국의 Troutlodge sablefish LLC 사로부터 분양받아 사용하였다. 순치 기간 동안 매일 2 번 식이 급이를 하고 항상 암주기인 상태를 유지하였다. 순치 후, 물고기

(몸 길이, 15.7 ± 1.8 cm, 체중, 72.6 ± 4.5 g)를 연구 대상으로 무작위로 선정 하였다. 탱크 수온은 수 냉각 장치로 유지되었다. 각 기간이 끝날 때 (2 개월 및 4 개월), sablefish는 22 시간의 암흑 / 2 시간 빛, 20 시간의 암흑 / 4 시간 빛, 16 시간의 암흑 / 8 시간의 빛 및 12 시간의 암흑 / 12 시간의 빛의 광주기에 노출되었다.

[0021] 혈액 샘플을 원심 분리하여 4 ℃에서 5 분간 3000g으로 혈청과 혈청을 분리하였다. 혈장 코티솔 농도는 단일 클론 항체 효소 결합 면역 흡착 분석 (ELISA) 정량 키트 (Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, USA)로 측정 하였다.

[0022] 또한, Superoxide dismutase (SOD) 활성은 SOD Assay kit를 사용하여 WST-1의 환원 반응에 대한 50 % 억제제 비율로 측정 하였다. Catalase (CAT) 활성은 OxiSelectTM Catalase Assay Kit를 사용하여 측정 하였다.

[0023] 리소자임 활성은 기질로서 Micrococcus lysodeikticus (Sigma)를 사용하는 탁도계 방법 (신장 샘플의 경우 0.2 mg / ml 0.05M 인산염 완충액, pH 6.6 및 혈장의 경우 pH 7.4)에 의해 결정되었다. 식균 작용은 식균 작용 분석 키트 (Cell biolabs, Inc.)를 사용하여 측정 하였다. 신장 및 혈장을 절제하고 Teflon- 유리 균질기를 사용하여 얼음 저온 균질화 완충액 10 배로 균질화시켰다.

[0025] 상기와 같이 은대구 치어의 성장을 확인한 결과, 광주기에 의해서 성장이 유의하게 감소하는 것으로 나타났으며, 4 개월 후 12D / 12L에서 매일 길이 증가와 일일 체중 증가가 유의하게 감소하였음을 알 수 있었다. 또한, 사료 효율은 4 개월에 12D / 12L에서 유의하게 감소하였다(도 1 참조).

[0026] 광주기 스트레스에 의한 은대구 치어의 SOD 활성과 CAT 활성을 확인한 결과에서는 SOD 활성과 CAT 활성이 유의하게 증가 하였다(도 2 참조). SOD 활성과 CAT 활성은 2 개월 동안 유의한 변화를 보이지 않았으나, 4 개월 후 12D / 12L에서 유의한 증가가 관찰되었다(도 2 참조).

[0027] 은대구 치어의 포도당과 혈장 cortisol의 변화는 본 발명의 도 3에 나타내었다. 은대구 치어의 포도당은 2 개월 동안 큰 변화를 보이지 않았으나, 4 개월 후 12D / 12L에서 유의하게 증가 하였다. 또한, 은대구 치어의 혈장 코티솔은 2 개월과 4 개월 후에 12D / 12L에서 유의하게 증가하였다.

[0028] 따라서, 장시간의 빛 노출은 은대구 치어의 포도당과 혈장 cortisol을 유의하게 증가시킴을 알 수 있었다.

[0029] 다른 수준의 광주기에 노출된 은대구 치어의 리소자임 활성 및 식균 작용은 표 1에 나타내었다.

[0030] 신장에서의 리소자임 활성은 2 개월 동안 유의한 변화를 보이지 않았으나, 4 개월 후 12D / 12L에서 유의한 증가가 관찰되었다. 혈장 내의 리소자임은 2 개월과 4 개월 사이에 유의한 변화를 보이지 않았다. 2 개월과 4 개월에 은대구 치어의 신장과 혈장에서 식균 작용에 유의한 변화는 없었다(표 1 참조).

[0031] [표 1]

Parameters		Period (months)	Photoperiod levels (darkness/light)			
			22D/2L	20D/4L	16D/8L	12D/12L
Lysozyme (μg/mL)	Kidney	2	33.2±2.76^{a}	34.1±2.82^{a}	37.7±2.09^{ab}	36.9±2.36^{ab}
		4	32.7±3.74^{a}	33.2±3.92^{a}	38.1±3.08^{ab}	**42.7±2.16^{b}**
	Plasma	2	3.9±0.56^{a}	3.6±0.73^{a}	4.2±0.49^{a}	3.9±0.51^{a}
		4	3.7±0.44^{a}	3.8±0.52^{a}	4.1±0.58^{a}	4.4±0.72^{a}
Phagocytosis (optical density)	Kidney	2	2.16±0.17^{a}	2.15±0.22^{a}	2.19±0.30^{a}	2.76±0.32^{a}
		4	2.18±0.24^{a}	2.17±0.27^{a}	2.73±0.21^{a}	2.91±0.25^{a}
	Plasma	2	1.37±0.11^{a}	1.55±0.12^{a}	1.67±0.22^{a}	1.74±0.19^{a}
		4	1.43±0.13^{a}	1.47±0.22^{a}	1.54±0.18^{a}	1.82±0.24^{a}

[0032]

[0034] 환경 변화는 일반적으로 혈장 호르몬 또는 기질 농도의 변화 또는 적혈구 매개 변수의 변화에 의해 이론적으로 검출 될 수 있는 잠재적인 스트레스 원으로 간주된다.

[0035] 은대구 치어의 광주기적 스트레스는 숙주 감수성을 증가시켜 면역 체계를 자극 할 수 있으며, 이는 어두운 곳을 선호하는 경향이 있는 수생 동물의 비특이성 면역에 영향을 줄 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0037] **<실시예 2>**

[0038] **광주기 변화에 따른 은대구 치어의 혈액 및 스트레스 정도 확인**

[0039] 사육 중인 은대구 치어(sablefish; Anoplopoma fimbia)는 미국의 Troutlodge sablefish LLC 사로부터 분양받아 사용하였다. 순치 기간 동안 어류는 매일 두 차례 먹이를 먹고 24 시간 동안 암주기와 일정한 상태를 유지했다. 순치 후, 어류 (체장 15.7 ± 1.8 cm, 체중 72.6 ± 4.5 g)를 연구 대상으로 무작위 추출 하여 사용하였다.

[0040] 탱크 수온은 수 냉각 장치로 유지되었다. 각 기간의 끝에서 (2 개월 및 4 개월), 은대구 치어는 22 시간의 암흑 / 2 시간 빛, 20 시간의 암흑 / 4 시간 빛, 16 시간의 암흑 / 8 시간 및 12 시간의 암흑 / 12 시간 빛을 노출하여 실험하였다.

[0041] 혈액 샘플은 원심 분리하여 4 ℃에서 5 분간 3000g으로 혈청과 혈청을 분리하였으며, 포도당은 GOD / POD 기술로 분석 하였다.

[0042] 혈장 코티솔 농도는 단일 클론 항체 효소 결합 면역 흡착 분석 (ELISA) 정량 키트 (Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, USA)로 측정 하였다. 총 적혈구 수, 헤모글로빈 (Hb), 농도 및 헤마토크릿 (Ht) 값은 즉시 실험을 통해 확인하였으며, hemocytometer, Cyan-methemoglobin technique 및 microhematocrit 원심 분리 기술을 사용하였다.

[0043] 무기 물질 분석에서 칼슘과 마그네슘은 자일리딜 블루와 o- 크레졸 프탈린 - 복합체 분석으로 확인하였다. 유기물 분석에서는 콜레스테롤과 총 단백질을 효소법과 뷰렛 법으로 분석 하였다. 효소 활성 분석에서 glutamic oxalate transaminase (GOT)와 glutamic pyruvate transaminase (GPT)를 클리닉 알 키트를 사용하여 Kind-king technique으로 분석 하였다.

[0044]

[0045] 물고기는 급성 및 만성 환경 장애에 민감하며 스트레스 반응을 나타낸다 (Pickering and Duston, 1983). 환경적

교란은 혈장 호르몬이나 기질 농도의 변화로 알려진 스트레스의 잠재적 원천으로 간주된다 (Donadson, Barton, 1997).

[0046] 본 발명에서 광주기 변화는 환경 교란으로 인식되었다. 이번 연구에서, 은대구 치어의 다른 광주기 수준은 혈액학적 및 스트레스 반응에서 유의한 증가를 유도했다.

[0047] 포도당은 4 개월 후 12D / 12L에서 유의하게 증가하였고, 코티솔 수치는 2 개월 후 12D / 12L, 4 개월 후 12D / 12L의 유의한 증가가 있음을 알 수 있었다(도 4 참조).

[0048] 또한, 광주기적 스트레스에 의해 변화된 혈액학적 요인의 변화는 도 5에 나타내었다. 적혈구 수는 4 개월 후 12D / 12L에서 유의하게 감소하였으며, 헤모글로빈 수치는 4 개월 후 12D / 12L에서 유의하게 감소하였음을 확인하였다. 그러나 헤마토크리트(hematocrit)는 유의한 변화를 보이지 않았다.

[0049] 광주기에 의해 변화된 무기 플라즈마 성분은 표 2에 나타내었으며, 칼슘과 마그네슘은 유의한 변화를 보이지 않았음을 알 수 있었다.

[0051] [표 2]

[0052]

Parameters	Period (months)	Photoperiod levels (darkness/light)			
		22D/2L	20D/4L	16D/8L	12D/12L
Calcium (mg/dL)	2	1.82±0.26[a]	1.66±0.42[a]	1.93±0.26[a]	1.87±0.29[a]
	4	1.79±0.35[a]	1.92±0.28[a]	1.86±0.39[a]	2.02±0.34[a]
Magnesium (mg/dL)	2	3.56±0.46[a]	3.18±0.35[a]	3.22±0.49[a]	3.83±0.28[a]
	4	3.39±0.61[a]	3.83±0.54[a]	3.76±0.70[a]	4.03±0.41[a]

[0054] 또한, 광주기에 의해 변화된 유기플라즈마 성분은 표 3에 나타내었으며, 콜레스테롤과 총 단백질은 유의한 변화를 보이지 않았다.

[0056] [표 3]

[0057]

Parameters	Period (months)	Photoperiod levels (darkness/light)			
		22D/2L	20D/4L	16D/8L	12D/12L
Cholesterol (mg/dL)	2	128.9±8.3[a]	135.3±6.6[a]	142.3±8.7[a]	137.3±9.5[a]
	4	136.8±7.6[a]	133.2±8.9[a]	135.7±7.6[a]	141.3±10.2[a]
Total protein (mg/dL)	2	4.83±0.80[a]	4.63±0.74[a]	5.17±0.71[a]	5.32±0.87[a]
	4	4.18±1.05[a]	4.75±0.82[a]	4.80±0.57[a]	5.06±0.92[a]

[0059] 광주기적 스트레스에 의해 변화된 효소 플라즈마 성분은 표 4에 나타내었으며, GOT와 GPT도 유의한 변화를 보이지 않았다.

[0061] [표 4]

Parameters	Period (months)	Photoperiod levels (darkness/light)			
		22D/2L	20D/4L	16D/8L	12D/12L
GOT (karmen unit)	2	2.86±0.14[a]	2.94±0.12[a]	3.10±0.15[a]	2.90±0.15[a]
	4	2.78±0.13[a]	3.05±0.14[a]	2.98±0.14[a]	3.01±0.11[a]
GPT (karmen unit)	2	1.88±0.08[a]	1.98±0.07[a]	1.94±0.09[a]	1.94±0.07[a]
	4	1.82±0.09[a]	1.87±0.07[a]	2.02±0.11[a]	1.97±0.08[a]

[0062]

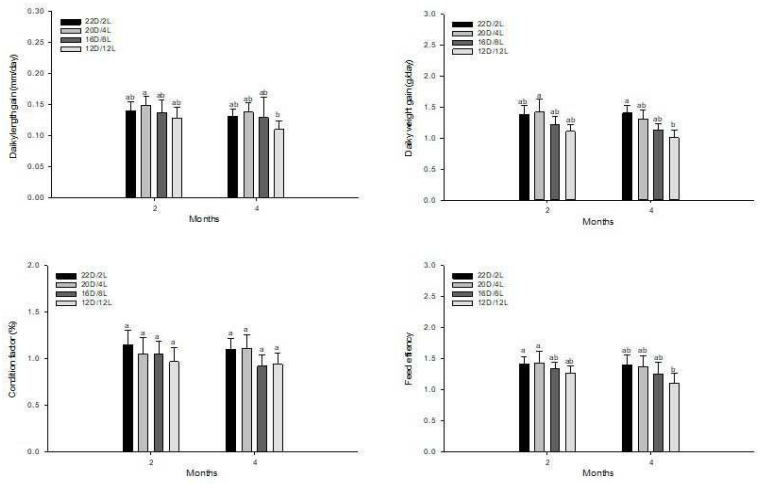
[0064] 전체적으로, 혈액학적 매개 변수와 스트레스 반응은 빛에 더 많이 노출됨에 따라 증가하는 경향이 있었다. 그러나 무기, 유기 및 효소 플라즈마 성분은 변화를 보이지 않았다. 이러한 결과를 토대로 광주기의 수준이 어린 은대구(Anoplopoma fimbria)의 혈액학적 인자와 스트레스 반응에 영향을 미침을 알 수 있다. 이러한 결과는 은대구 치어(Anoplopoma fimbria)의 관리 및 생리적 반응을 정량화 할 수 있는 생물학적 역할 모델을 결정하는 데 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

[0065]

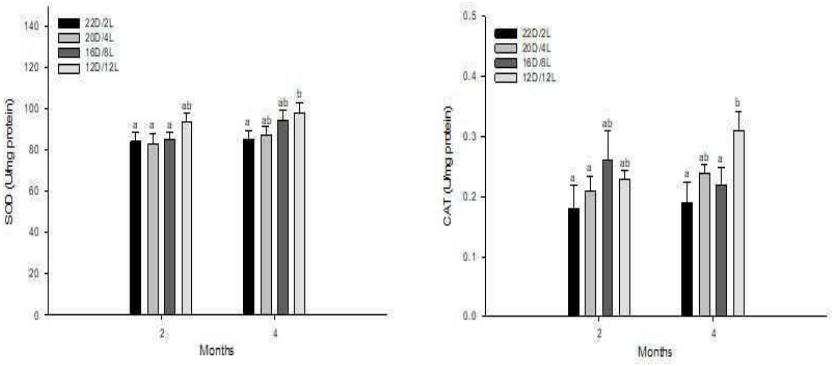
[0066] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

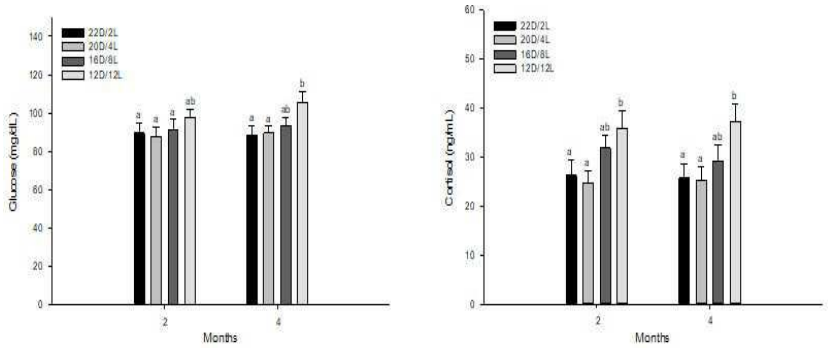
도면1



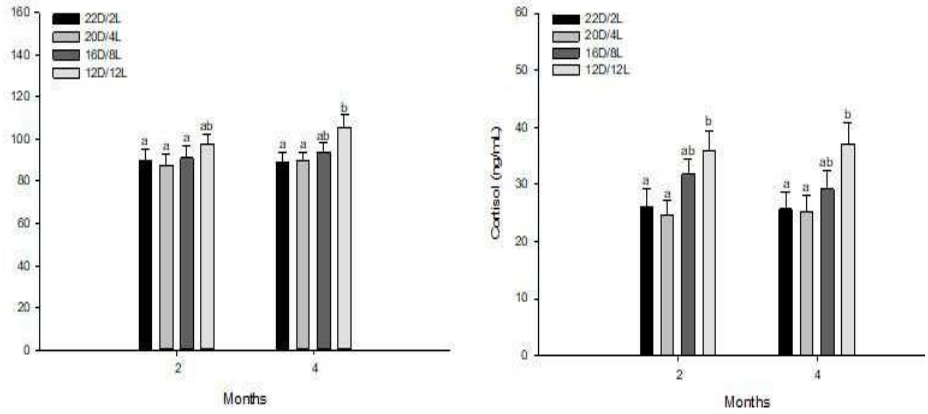
도면2


22D/2L
20D/4L
16D/8L
12D/12L
SOD (U/mg protein)
CAT (U/mg protein)
Months

도면3


22D/2L
20D/4L
16D/8L
12D/12L
Glucose (mg/dL)
Cortisol (ng/mL)
Months

도면4


22D/2L
20D/4L
16D/8L
12D/12L
Cortisol (ng/mL)
Months

도면5

