Bull. Mar. Environ. Res. Inst.
Cheju Nat. Univ., 28(1): 7-13, 2004

제주대 해양과환경연구논문집, 28(1): 7-13, 2004

# 넙치에 있어서의 유용미생물과 한약재 혼합 첨가제(한방천 · 어력천)의 첨가가 생리활성에 미치는 효과

여 인 규 · 노 섬
제주대학교 해양과학부

# Effects of Additive of Effective Microorganisms and Herb Medicine (Hanbangchun · Olyukchun) on Physiological Vitality in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

In-Kyu Yeo and Sum Rho
*School of Ocean Science, Cheju National University, Jeju-Do 690-756, Korea*

The effects of a new fish feed additives utilizing effective microorganisms and herb medicine, which is proved to improve biophysiological vitality, on enhance physiological vitality in olive flounder(*Paralichthys olivaceus*). The additives was administrated with feed at the following concentration: control, 0.3, 0.6 and 0.9% of total feed. Body weight and condition factor in fed diets containing 0.3 and 0.6% of the additives were significantly increased than that of fish fed control diet($P<0.05$). Red blood cell count, hematocrit and hemoglobin were significantly increased at 0.6, 0.3 and 0.9%, respectively. Survived times of fish when exposed in the air was the longest in the 0.6% group and followed by that in the 0.3 and in the 0.9% groups. The death rate of olive flounder due to lymphocystis significantly decreased by the additives in a concentration dependent way. These results suggest that the dietary additives, Hanbangchun and Olyukchun, increase the tolerance of fish in low oxygen condition and prevention of fish disease.

**Key words** : fish feed additives, microorganism, herb medicine, lymphocystis, olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)

## 서 론

양식어류의 영양 및 사료에 관한 연구는 양식어류의 성장, 상품성의 향상 및 생산성의 증대를 위해 중요한 과제로, 최근에는 어류의 성장률과 사료효율을 개선시키기 위해 단백질, 아미노산, 필수 지방산, 비타민 요구량의 규명을 통한 영양학적인 면과 함께 주로 상품크기의 어류를 생산하기 위해 성장위주로 진행되어 왔다. 하지만 영양적인 면만을 고려한 사료의 개발과 기초적인 영양사료의 공급은 어류의 상품성 저하와 생산성 향상을 위한 고밀도 사육과 맞물려 수질악화 및 각종 질병의 발생을 증가시켜 왔고 사료에 대한 개선책은 양식산업에 있어서 해결해야할 중요한 과제로 제시되고 있다.

최근 신기능성의 사료첨가제로서 한약재를 이용

하여 면역력, 생존율, 성장 및 사료효율의 향상시키는 등의 연구가 다수 이루어지고 있다(Tanimoto et al., 1993; Kim et al., 1996; 권, 1998). 이외에도 해조류, 키토산 및 성장호르몬을 이용하여 어류의 생리적인 기능의 향상을 이룰 수 있는 것으로 알려져 있다(Nakagawa et al., 1981; Yone et al., 1986; Nematipour et al., 1987; Kim and Choi, 1996). 또한, 유용미생물군에는 광합성세균을 중심으로 유산균, 효모균, 방선균, 국균 등 주로 통기혐기성 또는 미호기성인 미생물을 포함하고 있으며, 현재 농업, 축산, 환경개선 및 미용제품으로 시판되고 있다(比嘉, 1995). 어류양식에 있어서의 유용미생물 사용은 많은 연구가 이루어지고 있지 않으나, 최근 송 등(2002)은 감귤착즙액에 유용미생물을 접종하여 사육한 넙치에서 사료효율 및 장 활성 증대를 통한 성장과 생리 활성에 효과적인 것으로 보고하였다. 이러한 점에서 최근 유용미생물군의 활용은 사육 대상어류의 직접적인 건장증진은 물론 환경 즉 수질 개선의 측면에서 유용할 것으로 여겨지고 있다.

한편, 일반적으로 사육동물의 건강 및 영양 상태를 파악하기 위해 혈액성상의 변화에 많은 연구가 진행되었다. 어류의 경우는 수생환경이라는 특수한 환경 속에서 생활을 하고 있어 여러 가지 외부의 요인으로 인해 생리적인 변화가 다양할 뿐만이 아니라 관찰에도 많은 어려움이 있어 그다지 활발한 연구가 이루어지지 않았다. 그러나 최근에는 어류양식이 활발해지고 이에 따른 영양관리, 질병관리 및 환경에 대한 스트레스의 분석이라는 측면에서 혈액성상의 농도 변화에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다(Ikeda and Minami, 1982; Perez et al., 1988; Peterson, 1990; Haney et al., 1992). 일반적으로 어류의 혈액성상은 같은 어종에서도 서식환경 등의 변화에 따라 변화하는 것으로 알려져 있다(Nakagawa et al., 1977; Ferrer et al., 1994).

이에 따라 본 연구에서는 유용미생물과 함께 생리활성증대에 효과가 있는 한약재를 동시 첨가하여 배양한 사료첨가제를 넙치의 사료에 첨가하여 어체의 생리활성, 질병 및 저산소 내성 증대에 미치는 영향을 조사하여 새로운 사료첨가제로서의 이용성을 판별하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험사료의 제작

사료첨가제는 주식회사 제우축산연구소에서 제작된 것으로 그 구성 성분은 다음과 같다. 유용미생물(유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균)과 당귀(숭엄초), 작약 등 15종의 한약재를 첨가시켜 발효 부숙시켜 제조한 액상 첨가제(어력천)와 어력천을 넙치용 분말사료인 마린피아(수협)와 혼합 발효시킨 분말첨가제(한방천)를 사용하였다. 어력천은 유용미생물과 한약재만을 첨가한 것으로 어력천의 액상에 포함되어 있는 활성을 띤 유용미생물을 이용하여 한방천에 포함되어 있는 성분의 상승작용을 위하여 개발하였다. 사료첨가제의 농도는 생사료와 분말사료를 8:2의 비로 만든 모이스트 펠렛(MP)에 어력천과 한방천을 1:2의 비율로 첨가하여 최종농도가 0, 0.3, 0.6 및 0.9%가 되도록 각각 첨가하였다.

### 실험어

실험어는 평균전장과 체중이 각각 7.7±0.39 cm 및 3.9±0.7 g의 넙치 치어로 콘크리트 사각수조(5×5×0.9 cm)에 총 4개의 실험구으로 나누어 2반복으로 1,000마리씩 각 수조개체군의 크기에 유의차이가 없도록 배치한 후 각각의 실험농도로 첨가한 모이스트 펠렛(MP)을 1일 3-5회 매일 만복 공급하여 사육하였다. 유수량은 18~22 회전/일이 되도록 하였다. 실험어는 4주 간격으로 어체 측정을 실시하여 전장, 체중을 측정하였고, 실험종료시에 간중량지수(Hepatosomatic index, HSI) 및 비만도(Condition factor, CF)를 조사하였다.

### 혈액성분분석

각 실험구별로 실험어 5마리씩을 무작위 추출하여 미병부로부터 혈액을 채혈한 후 적혈구용피펫을 이용하여 Hend's diluting solution으로 200배 희석하여 혈구계산판으로 적혈구수(RBC)를 계수하였다. 적혈구용적비(Ht)는 혈액을 헤마토크리트관에 채혈한 후 원심분리(4,000 rpm, 30분)하여 혈액에 대한 적혈구의 용적비를 구하여 나타내었다. 헤모글로빈농도(Hb)는 시안메타헤모글로빈법을 이용하여 측정하였다.

### 공기 중 노출에 따른 생존시간 및 림포시스티스 감염에 따른 사망개체수

개체의 공기 중에서의 생존시간을 조사함으로서 호흡기능의 효율을 평가할 수 있다. 혈액 중의 헤모글로빈의 산소결합능이 높으면 저산소상태에 있어서도 효율적으로 산소를 조직에 운반이 가능하여 공기 중에서도 보다 장시간 생존이 가능하다. 실험종료시의 대조구와 실험구으로부터 5마리씩 취하여 플라스틱용기에 젖은 신문지를 깔고, 그 위에 실험어를 놓고 아가미 운동이 멈추는 것을 사망 기준으로 하여 공기 중에서의 생존시간을 측정하였다.

림포시스티스의 감염은 실험 도중 11월에 자연적으로 발생하였다. 이에 따른 사망개체수를 1일 단위로 계수하여 최종 림포시스티스의 증상이 외부적으로 관찰되지 않은 시기까지의 합계를 구하여 개체수로 나타내었다.

### 통계처리

실험결과의 분석은 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였으며 Statistical Analysis(SAS Institute North Caroline, Version 6.12, USA)를 사용하여 검정하였다.

## 결 과

### 성장 및 생존율

실험 시작 시의 평균 전장은 7.7±0.4 cm이었으며, 실험 종료시 대조구에서 29.6±1.5 cm이었고, 0.3%, 0.6% 그리고 0.9% 실험구에서는 각각 31.0±1.5, 31.3±1.5 그리고 30.3±1.2 cm로 성장하여 0.6% 실험구에서 성장이 가장 높았으나 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 1, $P>0.05$). 그러나 실험시작 시의 평균 체중은 3.9±0.7 g 이었으며, 실험 종료시 대조구에서 326.5±59.1 g로 성장하였고 0.3%, 0.6% 및 0.9% 실험구에서는 375.8±61.5, 370.4±63.1 및 351.0±45.6 g으로 각각 성장하여 0.3과 0.6% 실험구에서 유의한 체중증가효과를 나타내었다(Table 1, $P<0.05$). 이에 따른 비만도는 대조구에서 12.46±0.64 이었고 0.3, 0.6 그리고 0.9% 실험구에서 각각12.61±0.73, 12.60±0.58 그리고 12.65±0.61로 대조구에 비해 다소 높은 수치를 나타내었다(Table 1, $P<0.05$). 사육기간 중의 생존율은 대조구에서 77.95% 이었고, 0.3, 0.6 그리고 0.9% 실험구에서 각각 84.25, 89.00 그리고 94.90%로 첨가농도가 증가할수록 생존율이 높아지는 결과를 나타내었다(Table 1).

### 혈액성분분석 및 공기노출에 대한 내성

간중량지수(HSI)는 대조구에서 1.96±0.26 그리고 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 2.30±0.32, 2.07±0.39, 1.96±0.21로 0.3% 실험구가 대조구에 비해 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 1, $P<0.05$). RBC는 대조구에서 $2.90\pm0.42\times10^6$ cell/㎕ 이었고, 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 $2.90\pm0.74\times10^6$, $4.05\pm0.17\times10^6$ 및 $2.61\pm0.24\times10^6$로 0.6%의 실험구에서 가장 높게 나타났다(Fig. 2, $P<0.05$). Ht는 대조구에서 30.3±9.0% 이었고 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 41.5±5.5, 33.1±6.9 및 29.8±5.8%로 0.3% 실험구에서 가장 높았다(Fig. 3, $P<0.05$). Hb 농도는 대조구에 비해 0.9% 실험구만이 유의한

**Table 1.** Total length, body weight, condition factor and survival of olive flounder fed four experimental diets containing different levels of feed additive

| Experimental group | Initial | | Final | | CF | Survival rate (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T.L. (cm) | B.W. (g) | T.L. (cm) | B.W. (g) | | |
| Control | 7.7±0.4 | 3.8±0.7 | 29.6±1.5 | 326.5±59.1 | 12.46±0.64 | 77.95 |
| 0.3% | 7.6±0.2 | 3.8±0.9 | 31.0±1.5 | 375.8±51.5* | 12.61±0.73* | 84.25 |
| 0.6% | 7.6±0.8 | 3.9±0.9 | 31.3±1.5 | 370.4±43.1* | 12.60±0.58* | 89.00 |
| 0.9% | 7.5±0.5 | 3.8±0.9 | 30.3±1.2 | 351.0±45.6 | 12.65±0.61* | 94.40 |

* $P<0.05$ for control.

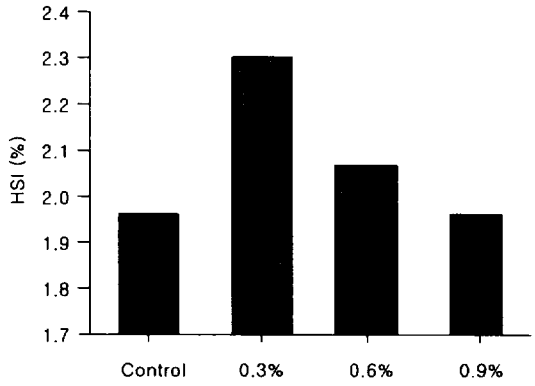


**Fig. 1.** Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatosomatic index (HSI) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P<0.05$ for control.

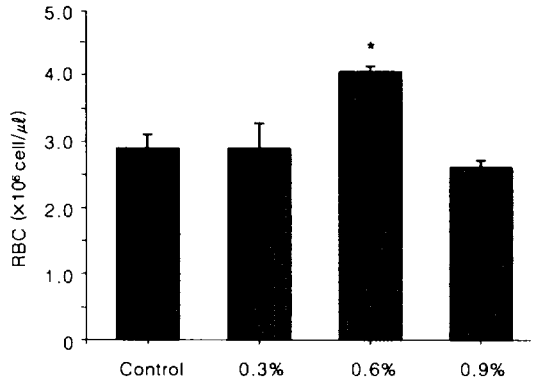


**Fig. 2.** Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the Red blood cell count (RBC) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P<0.05$ for control.

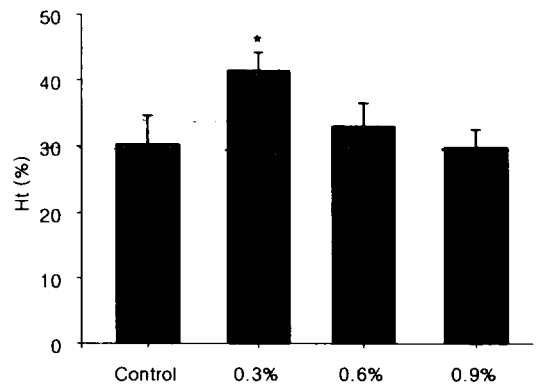


**Fig. 3.** Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hematocrit (Ht) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P<0.05$ for control.

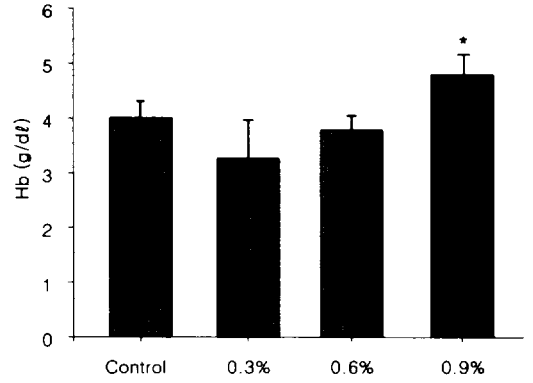


**Fig. 4.** Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hemoglobin(Hb) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P<0.05$ for control.

증가를 나타내었다(Fig. 4, $P<0.05$).

일반적으로 어류의 RBC, Hb 및 Ht의 감소는 빈혈을 유발시키는 것으로 알려져 있으므로, 상기의 결과는 활성의 증대, 산소의 운반능력이 증대된 것으로 여겨진다. 이에 따라 실제적으로 공기노출에 따른 생존율을 파악함으로서 산소내성을 조사하여 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 아가미운동의 정지를 기준으로 측정한 평균생존시간은 대조구가 64분으로 나타났으며, 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 91분, 106분 및 74분으로, 0.6%를 첨가한 실험구가 가장 긴 생존율을 나타내었다(Fig. 5, $P<0.05$).

## 3. 림포시스티스 감염에 따른 사망개체수

림포시스티스의 자연 감염에 따른 사망개체수는 전체실험개체 중에서 374마리였는데 비하여 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서는 243마리, 148마리 및 55마리로 첨가제의 농도 의존적으로 사망개체수가 감소하는 결과를 나타내었다(Fig. 6). 또한 실험 후 최종 생존율에 있어서도 대조구에서 약 78%, 그리고 0.3, 0.6 및 0.9%

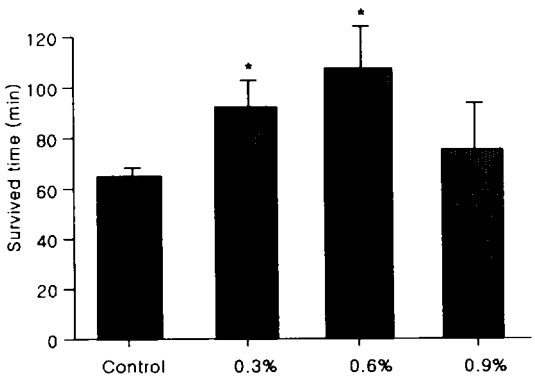


**Fig. 5.** Survived times of olive flounder when exposed in the air with addition of different new feed additive concentration. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
* $P < 0.05$ for control.

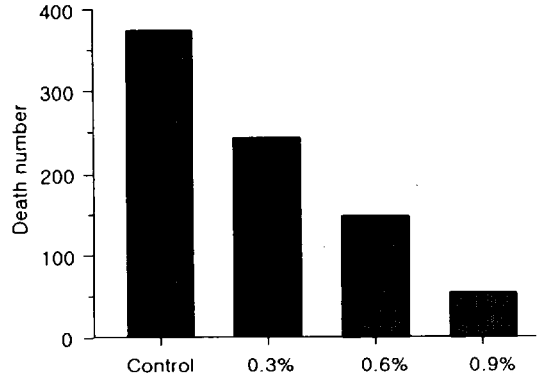


**Fig. 6.** The death number of olive flounder during lymphocystis infection with addition of different new feed additive concentration for one month.

에서 각각 84.3, 89.0 및 94.4%로 첨가농도가 높을수록 생존율이 높았다(Table 1).

## 고 찰

식물자원의 첨가제를 이용하여 사육한 어류의 비만도가 비첨가군에 비해 차이가 없거나 감소한다는 연구결과가 다수 보고 되고 있다(Nakagawa et al., 1985; Nakagawa and Kasahara, 1986; Kim and Choi, 1996). 그러나 최근 김 등(1998)은 넙치에 있어서 한방사료의 48주간 장기투여로 대조군에 비해 약 10%의 비만도 증가를 가져온 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서도, 첨가군에서 다소 높은 수치를 나타내어 한약재의 첨가에 따른 유사한 결과를 나타내었다.

한편, 김(1998)은 한약재의 첨가제를 투여하여 양식어류의 성장 향상뿐만이 아니라 질병예방에 효과적인 것으로 보고하고 있다. 그러나 한약재는 특성상 장기투여의 경우 부작용의 발생이 일반적으로 우려되지만 본 연구에서 사용된 15종의 한약재는 생존율의 향상 및 비만도의 증대를 가져오는 것으로 보아 안정적인 사료첨가제로 여겨진다.

또한 유용미생물을 사용하여 넙치의 성장촉진은 물론 장의 활성증대를 가져오는 것으로 알려져 있다(송 등, 2002). 본 연구에서 사용된 유용미생물은 유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균으로 기존의 연구결과와 유사한 결과로 생존율 및 체중의 증가를 가져왔다. 더욱이 본 연구에서는 치어기에서 성어기의 상품크기에 이르기까지 지속적인 사료공급과 현장규모의 측면에서 상기의 결과를 나타내어 현장에서의 직접적인 접목이 가능할 것으로 여겨진다.

일반적으로 어류의 RBC, Hb 및 Ht의 감소는 빈혈을 유발시키는 것으로 알려져 있으며 이러한 감소현상은 외부의 독성물질의 노출에 의해 더욱 뚜렷하게 나타난다(Garg et al., 199; Edosa et al., 1994; Khattak et al., 1996). 본 연구에서는 새로운 사료첨가제를 사용함으로서 유의적으로 증가된 수치를 나타내어 활성의 증대, 산소의 운반능력이 증대된 것으로 여겨진다. 이에 따라 실제적으로 공기노출에 따른 생존율을 파악함으로서 산소내성을 조사하였다. 그 결과 아가미운동의 정지를 기준으로 측정한 평균생존시간은 0.6%를 첨가한 실험구가 가장 긴 생존을 나타내었다. 일반적으로 혈액의 헤모글로빈의 산소결합능력이 높을 경우, 저산소의 환경조건에서 효율 높게 산소를 조직으로 운반 가능하여 공기 중에서 장기간 생존이 가능해 지는 것을 판단되므로, 본 연구에서도 이에 기인한 결과로 추정된다. 따라서 본 연구에서는 한약재와 유용미생물의 첨가를 통하여 저산소 상태에서 강한 생리활성을 가져 수송 운반에 따른 스트레스에 강한 어류의 생산이 가능할 것으로 여겨진다.

한편, 권(1998)은 한약재중 구기자 3%를 사료에 첨가하여 먹인 넙치에서도 대표적인 병원성 세균인 *Edwardsiella tarda*에 방어능력이 향상되었다고 보고

하고 있다. 사료내 한약재인 어보산 0.3% 첨가시에도 대조구보다 생존율이 향상되는 것으로 알려져 있다 (김 등, 1998). 본 연구에서는 사육 중에 발생한 림포시스티스에 대하여 첨가제 투여구가 농도 의존적으로 높은 생존율을 나타내었다. 이러한 결과는 본 연구에서 사용된 한약재와 유용미생물의 작용이 상호보완적으로 이루어져 생존율의 향상 및 림포시스티스에 대한 내병성효과를 나타낸 것으로 여겨진다.

이상의 결과를 요약하면, 유용미생물과 한약재를 혼합한 첨가제는 상호보완적인 작용을 통해 어체내의 부작용을 나타내지 않으며, 생리활성의 증대, 특히 산소운반능력의 증대를 통하여 운반 시에 발생하기 쉬운 저산소 상태에서의 내성을 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 질병에 대한 면역력의 증대를 가져와 사육에 따른 생존율을 향상시킴으로서 양식의 소득에 기여할 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구에서는 생리활성증대에 효과가 있는 한약재와 유용미생물을 동시 첨가한 새로운 사료첨가제가 넙치의 생리활성증대에 미치는 영향을 조사하였다. 첨가제는 총 사료의 0(대조구), 0.3, 0.6 및 0.9%를 첨가하여 실험하였다. 평균체중 및 비만도는 0.3 및 0.6%실험구에서 대조구에 비해 유의하게 증가하였다. RBC, Ht 및 Hb는 각각 0.6, 0.3 및 0.9% 실험구에서 유의한 증가를 나타내었다. 공기노출에 따른 평균생존시간은 0.6%에서 가장 길게 생존하였고, 0.3과 0.9%실험구가 그 뒤를 따랐다. 림포시스티스의 감염에 따른 사망률은 첨가제의 농도 의존적으로 낮아지는 결과를 나타내었다. 이상의 결과로 새로이 개발된 사료첨가제의 사용으로 저산소에 대한 내성의 증대와 질병에 대한 내성의 증대가 이루어질 것으로 추측된다.

## 사 사

이 논문은 2003년도 제주대학교 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었음.

## 참고문헌

권문경. 1998. 구기자 투여 및 백신 처리가 나일 틸라피아, Oreochromis niloticus의 반응에 미치는 효과. 부경대학교 석사논문, 62pp.

김동수 · 김종현 · 정창화 · 이상윤 · 이상민 · 문영봉. 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산의 효과, I. 넙치의 생존율, 성장, 사료효율 및 비만도에 미치는 영향. 한국양식학회지, 11(2): 213-221.

김종현. 1998. 한방사료 첨가제인 어보산이 전 암컷 넙치의 성장, 체성분, 혈액성분 및 육질에 미치는 영향. 부경대학교 박사논문, 73pp.

송영보 · 문상욱 · 김세재 · 이영돈. 2002. 상품사료에 첨가한 감귤발효액이 치어기 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장에 미치는 영향. 한국양식학회지, 15(2): 103-110.

北嘉照夫. 1995. EM産業革命.サンマノク出版.

Edosa, O., G.E. Thomas and C.O. Paul. 1994. Chronic effects of formalin on erythrocyte counts and plasma glucose of Nile tilapia, *Oreochromic niloticus*. Asian Fish. Sci., 7: 1-6.

Ferrer, M., J.A. Amat and J. Viñuela. 1994. Daily variations of blood chemistry values in the chinstrap penguin (*Pygoscelis antarctica*) during the Antarctic summer. Comp. Biochem. Physiol., 107A: 81-84.

Garg, V., S.D. Tyagi, N. Singh and S.C. Agarwal. 1991. Thallium nitrate induced haematobiochemical analysis of *Heteropneustes fossilis* blood. J. Environ. Biol., 12(3): 136-141.

Haney, D.C., D.A. Hursh, M.C. Mix and J.R. Winton. 1992. Physiological and haematological changes in chum salmon artificially infected with erythrocytic necrosis virus. J. Aquat. Anim. Health, 4: 48-57.

Ikeda, Y. and T. Minami. 1982. Hematological and hemochemical assessment on streptococcal infection in cultured yellowtail. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48: 1383-1388.

Khattak, I.U.D. and M.A. Hafeez. 1996. Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinion watsoni*. Pak. J. Zool., 28(1): 45-49.

Kim. D.S.. J.H. Kim. C.H. Jeong. S.M. Lee and Y.B. Moon. 1996. Effects of dietary herbs on growth and body composition in olive flounder. *Paralichthys olivaceus*. J. Aquacult.. 9: 461-465.

Kim. J.Y. and M.S. Choi. 1996. Effects of dietary *Enteromorpha compressa* on growth and blood properties in Israeli strain of common carp (*Cyprinus carpio*). J. Aquacult.. 9: 151-157.

Nakagawa. H. and S. Kasahara. 1986. Effect of Ulva-meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.. 52: 1887-1893.

Nakagawa. H.. H. Kumai. M. Nakamura and S. Kasahara. 1985. Effect of algae supplemented diet on serum and body constituents of cultures yellow tail. Bull. Soc. Sci. Fish.. 51: 279-286.

Nakagawa. H.. M. Kayama and K. Ikuta. 1977. Electrophoretic evidence of seasonal variation of carp plasma albumin. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.. 16: 99-106.

Nakagawa. H.. S. Kasahara. E. Uno. T. Minami and K. Akira. 1981. Effects of Chrorella-extract supplement in the diet on resisting power against disease of cultured Ayu. Aquaculture. 29: 109-116.

Nematipour. G.R.. H. Nakagawa. K. Nanbe. S. Kasahara. A. Tsujimura and K. Akira. 1987. Effect of Chlorella-extract supplement to diet on lipid accumulation of ayu. Nippon Suisan Gakkaishi. 53: 1687-1692.

Perez. J.. S. Zauny and M. Carrillo. 1988. Effects of diet and feeding time on daily variations in plasma insulin. hepatic cAMP and other metabolites in a teleost fish. *Dicentrarchus labrax* L. Fish Physiol. Biochem.. 5: 191-197.

Peterson. M.S. 1990. Hypoxia-induced physiological changes in two mangrove swamp fishes: Sheephead minnow. *Cyprinodon variegatus* Lacepede and sailfin molly. *Poecilla latipinna* (Lesueur). Comp. Biochem. Physiol.. 97A: 17-21.

Tanimoto. S.Y.. K. Ikuma and S. Takahashi. 1993 Improvement in raw meat texture of cultured eel by feeding of tochu leaf powder. Biosci. Biotech. Biochem.. 57: 205-208.

Yone. Y.. M. Furuchi and K. Urano. 1986. Effects of wakame *Undarea pinnatifide* and *Ascophyllum nodosm* supplements on growth. feed efficiency and proximate composition of liver and muscle of red seabream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.. 52: 1817 -1819.